

**Universidad Austral de Chile
Facultad de Ciencias Veterinarias
Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria**

**“Detección de *Salmonella* spp. en heces de bovinos muestreados en una
Planta Faenadora de Carnes (Frival), Valdivia , Chile.”**

Memoria de Título presentada como parte
de los requisitos para optar al TITULO DE
MEDICO VETERINARIO.

**RODRIGO HERNANDO CASTILLO GOMEZ
VALDIVIA – CHILE
2004.**

INDICE

	Pág.
1 RESUMEN	1
2 SUMMARY	2
3 INTRODUCCIÓN	3
4 MATERIAL Y METODO	8
4.1 Material	8
4.2 Método	8
5 RESULTADOS	11
5.1 Caracterización de los animales muestreados	11
5.2 Caracterización de las muestras positivas	12
6 DISCUSION	14
7 CONCLUSION	18
8 BIBLIOGRAFIA	19
9 AGRADECIMIENTOS	24

PROFESOR PATROCINANTE

: DRA. ERIKA GESCHE R.

PROFESORES CALIFICADORES

: DRA. XIMENA ROJAS S.

: DR. GEROLD SIEVERS P.

FECHA DE APROBACIÓN

: 6 de Mayo, 2004.

Dedico este trabajo a
mi madre y a mi polola
por su amor y apoyo
incondicional

1. RESUMEN

La salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por los alimentos más importantes y que produce grandes pérdidas económicas en los países industrializados. Está demostrado que el ganado bovino es portador natural de *Salmonella* spp. y que elimina la bacteria a través de las heces, convirtiéndose en una potencial fuente de contaminación de la canal y causar la aparición de brotes de intoxicaciones alimentarias en el hombre. El objetivo de este trabajo es determinar la frecuencia de presentación de *Salmonella* spp. en material fecal de bovinos aparentemente sanos llegados a una Planta Faenadora de Carnes y la tipificación serológica de las cepas obtenidas.

Las muestras de material fecal fueron obtenidas de la porción final del recto, las cuales fueron depositadas en el medio de transporte Cary-Blair®. Además, se recopilaron los datos sobre la procedencia, tipo y raza de los animales muestreados. La presencia de *Salmonella* spp. se determinó pesando un gramo de muestra añadiéndose a 100 ml de caldo Rappaport-Vassiliadis, incubándose a 37° C por 48 h. *Salmonella* spp. se aisló sembrando en placa, en los agaros selectivos XLD y SS e incubándose a 37 ° C durante 24 h. Las colonias sospechosas a *Salmonella* spp. se sometieron a confirmación bioquímica y a su posterior tipificación serológica.

De un total de 414 muestras analizadas, sólo en ocho de estas se encontró *Salmonella* spp., lo que corresponde a un 1.9%. El mayor porcentaje de muestras positivas (8%) fue encontrado en los animales que provenían desde Coyhaique. No se encontraron diferencias significativas en las razas y tipo. La serología arrojó que siete de las ocho muestras fueron *Salmonella panama* y la restante fue *Salmonella typhimurium*.

La frecuencia de presentación encontrada, es concordante con estudios realizados en otros países, donde los valores reportados no superan el 5%. El hecho de que el mayor porcentaje de muestras positivas fuera de Coyhaique es producto de que estos animales recorren grandes distancias y como consecuencia sufren un ayuno severo, lo que desencadena la eliminación de *Salmonella* spp. por las heces.

Se puede concluir que *Salmonella* spp. esta presente en las heces del ganado bovino que llega a una Planta Faenadora de Carnes, y que el transporte y el ayuno pueden influir en la cantidad de muestras positivas a encontrar. Los dos serotipos aislados están asociados con la presentación de cuadros clínicos de enfermedad en las personas.

Palabras claves: *Salmonella*, heces, bovino, Chile.

2. SUMMARY

Salmonellosis is one of the most important food transmitted diseases and generates large economic losses in the industrialized world. It has been shown that cattle are a natural host/carrier of *Salmonella* spp. who excrete the bacteria with their faeces and therefore become a potential source of contamination that may result in outbreaks of alimentary intoxication in man. The objective of this work was to determine the frequency of presentation of *Salmonella* spp. in faecal material obtained from apparently healthy cattle that arrived at an abattoir and serological typification of strains obtained was done.

The samples of faecal material were obtained manually from the terminal rectum and deposited into the transport medium Carry-Blair®. Data about the origin, type and breed of animal were also registered. The presence of *Salmonella* spp. was determined by weighing 1 g of faecal material, combining it with 100 ml of Rappaport-Vassiliadis broth and incubating it for 48 hours at 37° C. Suspicious colonies were submitted for biochemical confirmation and serological typification.

From a total of 414 samples examined, 1.9% (eight samples) showed the presence of *Salmonella* spp.. The largest part of the positive samples (8%) was from animal who originated in Coyhaique south of Chile. Did not find significant differences in the breeds and type. The serology results revealed that seven of the eight positive samples contained *Salmonella panama* and the remaining *Salmonella typhimurium*.

The frequency of presentation agrees with studies other countries, where data reported not exceed 5 %. The larger percentage of positive samples coming from Coyhaique is product that these animals travel larger distances and suffer a severe fasting to arrive the abattoir, what provoke *Salmonella* spp. elimination for the faeces.

It can be concluded that *Salmonella* spp is present in bovine faecal samples from abattoirs and that the transport and fasting can influence the number of positive samples. The two serotypes isolated were commonly associated with human illness.

Key words: *Salmonella*, faeces, bovine, Chile.

3. INTRODUCCION

La gran cantidad de toxiinfecciones alimentarias a causa del consumo de alimentos de origen animal, ha llevado a una reevaluación de los métodos de inspección de alimentos y mejora en los sistemas de producción animal, para así garantizar un producto seguro (Davies y col., 1998; Sorensen y col., 2002). Ransom y col. (2002) mencionan que los patógenos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), provocan que en Estados Unidos enfermen aproximadamente 76 millones de personas cada año, de los cuales 5.000 terminan con la muerte del paciente. Dentro de los agentes causantes de ETA se encuentra *Salmonella* spp., uno de los mas importantes, además de ser una de las zoonosis mas difundidas a nivel mundial y ser responsable de la aparición de cuadros clínicos de enfermedad tanto en animales como en humanos (Corrier y col., 1990; Acha y Szyfres., 2001; Tavechio y col., 2002). Se ha estimado que más de un tercio de todos los casos notificados de intoxicaciones por el consumo de alimentos han sido provocados por *Salmonella* spp., y la incidencia de infecciones por esta bacteria ha aumentado en países industrializados (Bryan, 1981; Acha y Szyfres., 2001).

La mayor causa de salmonelosis en humanos es producto del consumo de alimentos, en su mayoría de origen animal, que se encuentran contaminados con la bacteria (Barham y col., 2002; Tavechio y col., 2002). Los alimentos que frecuentemente están asociados a la presentación de cuadros de salmonelosis son la carne de vacuno, cerdo y pollo, aunque otros alimentos como las frutas frescas, jugos de frutas no pasteurizados, y vegetales son también vehículos de transmisión aunque menos frecuentes (OMS, 1988; Fica y col., 1997; Wells y col., 2001; Tavechio y col., 2002). La leche y productos lácteos también pueden contener *Salmonella* spp. a causa de contaminación con fecas, sin embargo el problema no es de tanta importancia en la leche pasteurizada, ya que este proceso destruye la bacteria, en cambio se ha demostrado que *Salmonella* spp. puede sobrevivir al proceso de secado de la leche, cuando se utiliza leche sin pasteurizar como materia prima (Blood y Radostitis, 1992; Vlaemynck, 1994;).

La salmonelosis como enfermedad se caracteriza por un cuadro clínico en el hombre, que Jawetz y col. (2002) y Mims (1999) describen como una enterocolitis acompañada con vómitos, náuseas, deshidratación, dolor intestinal y de cabeza, fiebre y escalofríos. El periodo de incubación es de 6 a 72 h luego de la ingestión del alimento contaminado, siendo de curso benigno y de recuperación clínica entre 2 a 4 días. Sin embargo se presentan algunos casos agudos que pueden derivar en una bacteremia con lesiones focales en meninges, encéfalo, pulmones y huesos. Después de infecciones clínicas o subclínicas, algunas personas continúan albergando salmonelas en sus tejidos durante un tiempo variable (portadores convalecientes o portadores permanentes sanos). Un 3% de las personas que se mejoran de cuadros de fiebre tifoidea se convierten en portadores permanentes y albergan los microorganismos en la vesícula biliar y conductos biliares (Jawetz y col., 2002).

Salmonella spp. es la segunda causa más importante de enfermedades transmitidas por alimentos en los Estados Unidos. En 1996, el costo atribuido a la presentación de cuadros de salmonelosis en este país fue estimado entre US\$ 600.000.000 y US\$ 3.500.000.000. En 1999, se estimó que se produjeron 1.341.873 casos de salmonelosis, 15.608 hospitalizaciones y 553 muertes (Murinda y col., 2002). A su vez, en Chile durante el año 1998, se recibieron por parte del Laboratorio de Referencia de Enterobacterias del Instituto de Salud Pública de Chile la cantidad de 1.349 muestras clínicas que correspondieron a aislamientos de origen humano como coprocultivo, hemocultivo y urocultivo, siendo los principales serotipos aislados *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhi* (Heitmann y col., 1999). Por otro lado, el tratamiento de los casos cada vez es más complejo, ya que múltiples cepas de *Salmonella* spp, y en especial *Salmonella typhimurium*, han adquirido gran resistencia a los antibióticos (Tauxe, 1991; Davies y col., 1998; O'Carroll., y col. 1999; Bacon y col., 2002; Beach y col., 2002b; Murinda y col., 2002; Sorensen y col., 2002).

El aumento de la resistencia antibiótica de *Salmonella* spp. es un problema no sólo en los Estados Unidos, sino que en todo el mundo. En Estados Unidos se encontró entre los años 1979-1980, dentro de los aislamientos de *Salmonella* spp., resistencia a antibióticos en un 16%, en por los menos a uno de los antibióticos analizados. En los años 1989-1990 el nivel de resistencia aumentó a un 29%, y a un 37% en el año 1996. En el año 1996 este país experimentó el caso de un serotipo resistente a 5 variedades de antibióticos a la vez; el cual fue identificado como *Salmonella typhimurium* DT104 (Bacon y col., 2002; Kiessling y col., 2002). En el año 1998 se aisló, en un joven de Nebraska, una cepa de *Salmonella* spp. que fue resistente a 12 tipos de antibióticos. Aunque la emergencia de múltiples cepas resistentes a una gran cantidad de antibióticos es bien sabida, la preocupación actualmente es la resistencia a cefalosporinas y fluoroquinolonas, antibióticos que son usadas en el tratamiento de cuadros clínicos de salmonelosis humana (Bacon y col., 2002). La resistencia antibiótica por parte de los patógenos que se transmiten por los alimentos, como lo es *Salmonella* spp., es una consecuencia del uso indiscriminado y sin control de los antibióticos en los sistemas de producción animal tanto en forma terapéutica como profiláctica (Beach y col., 2002b, Doyle y col., 2002).

El género *Salmonella* spp. pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*; son bacilos Gram negativos, aerobio o anaerobio facultativo, móviles por flagelación peritrica (Mims, 1999; Jawetz y col., 2002; Doyle y col., 2001). *Salmonella* spp. es capaz de crecer en forma óptima a 35–37° C y a un pH entre 6.5-7.5; es muy sensible a valores bajos de actividad de agua (< 0.94) y son incapaces de tolerar altas concentraciones de sal (Vlaemynck, 1994; Schlicht, 1997). *Salmonella* spp. produce gas y ácido a partir de la glucosa, manitol, maltosa y sorbitol; no ocurriendo así con lactosa, ni sacarosa. Generalmente producen H₂S, no forman indol y tampoco hidrolizan la urea. *Salmonella* spp. es generalmente resistente a ciertas sustancias químicas que inhiben a otras bacterias entéricas, ventaja que puede ser usada para su aislamiento (Vlaemynck, 1994; Jawetz y col., 2002, Doyle y col. 2001).

Moats (1981), Vlaemynck (1994) y Jawetz y col. (2002) mencionan que *Salmonella* spp. es resistente a ciertas sustancias químicas, como por ejemplo el verde brillante, tetrionato de sodio y desoxicolato de sodio que inhiben el desarrollo de otras bacterias

entéricas, y que por lo tanto su presencia es útil en los medios de cultivo selectivos para el aislamiento de *Salmonella* spp. en la heces. Además, en la literatura se señalan diferentes cantidades de muestras para el aislamiento de *Salmonella* spp. en heces, que van desde 1 hasta 10 g (Bender y col., 1997; Davies y col., 1998; Fedorka-Cray y col., 1998, Van Donkersgoed y col., 1999; Barkocy-Gallagher y col., 2002; Huston y col., 2002a; Huston y col., 2002b; Sorensen y col., 2002).

En la actualidad se conocen unos 2.200 serotipos, clasificados sobre la base de los antígenos somático O, flagelar H y capsular VI descubiertos hasta la fecha (Acha y Szyfres., 2001). Desde el punto de vista epidemiológico, *Salmonella* spp. se puede clasificar en tres grupos principales. El primer grupo comprende *Salmonella typhi* y *paratyphi* A y C, que infecta sólo al hombre y se propagan en forma directa o indirecta de una persona a otra. El segundo grupo incluye serovariedades adaptadas al huésped, como por ejemplo *Salmonella dublin* en bovinos, siendo algunos de este grupo patógenos también para el hombre. El tercer grupo esta formado por la mayoría de las serovariedades de *Salmonella* spp., sin ninguna preferencia en particular por el huésped, que infecta al hombre y a los animales. En este grupo están los principales agentes de la salmonelosis que ocurre hoy en día (OMS, 1988).

Muchos serotipos de *Salmonella* spp. han sido aislados tanto en animales como personas enfermas, pero los más comúnmente aislados son *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium*. *Salmonella enteritidis* predomina en aves, mientras que *Salmonella typhimurium* ha sido aislada de una gran variedad de animales domésticos, incluyendo al ganado bovino, pollos, ovinos, cerdos, gatos, y de animales de vida silvestre como aves, roedores, y zorros (Zhao y col. 2002).

Uno de los principales huéspedes para *Salmonella* spp. es el ganado bovino, en los cuales la falta de síntomas en la mayoría de los animales infectados y las dificultades técnicas para detectar esos portadores, los convierten en fuente continua de contaminación del medio ambiente a través de las heces (OMS, 1988). Murinda y col (2002) señalan que la salmonelosis es una importante enfermedad tanto en bovinos adultos como en terneros, siendo los principales serotipos aislados *Salmonella typhimurium* y *Salmonella dublin*. *Salmonella* spp. puede ser recobrada de la glándula mamaria, nódulos linfáticos y contenido intestinal durante el faenamiento del ganado.

Salmonella spp. en los bovinos, ingresa por vía oral al organismo, donde invade la pared intestinal en el íleon y ciego, progresando hasta los ganglios linfáticos mesentéricos. En animales con inmunidad deprimida, la diseminación llega hasta más allá de los ganglios linfáticos mesentéricos, hasta establecerse en las células retículo endoteliales del hígado, desde donde invade la corriente sanguínea. Sus principales manifestaciones son septicemia, enteritis, aborto y diversas localizaciones en distintos tejidos, como consecuencia de la bacteremia. Muchos animales sobreviven a la septicemia, pero se produce localización de las bacterias en los ganglios linfáticos mesentéricos, hígado, bazo y especialmente vesícula biliar, convirtiéndose así en portadores que liberan *Salmonella* spp. de forma intermitente a partir de la vesícula biliar y de los focos de infección de la pared intestinal, en las heces y ocasionalmente en la leche (Blood y Radostitis, 1992).

Blood y Radostitis (1992) y Huston y col (2002a) describen que el ganado infectado con *Salmonella* spp. puede eliminar la bacteria por las heces en forma continua o intermitente, ya sea en animales que presenten signos clínicos o no (subclínicos). El estrés a causa de la alta producción, la alta densidad de animal, la mezcla de animales de diferentes edades y el transporte, entre otros problemas, pueden desencadenar la eliminación de *Salmonella* spp. a través de las heces y propagar la infección dentro del rebaño (Corrier y col., 1990; Beach y col., 2002a). Adicionalmente, el microorganismo puede sobrevivir por largos periodos de tiempo en el animal y en el medio ambiente, produciendo una infección crónica en el rebaño (Barham y col., 2002; Beach y col., 2002a; Huston y col., 2002b). Además, Wray y Sojka (1977) y Bryan (1981) señalan que la infección por *Salmonella* spp. puede provenir de otras fuentes, como lo son la compra de animales infectados, contaminación del agua y alimento, infección cruzada con otros animales domésticos o de vida silvestre. Wray y Sojka (1977) mencionan que los animales que se recuperan de una infección por *Salmonella* spp. pueden continuar excretando la bacteria por un periodo de tiempo que usualmente son unas pocas semanas o meses. La actividad de portador puede durar hasta que se presenta un problema y desencadena la presentación de la enfermedad, pero el adulto rara vez permanece infectado por un periodo largo de tiempo.

Se ha estimado, que en Estados Unidos entre un 12% a un 75% de los rebaños han sido expuestos a *Salmonella* spp. a lo largo de su vida. El conocimiento de la prevalencia de esta bacteria en las heces del ganado esta asociado a un importante factor de riesgo, que puede ser usado para la implementación de estrategias antes y durante la matanza con el fin de reducir la posibilidad de contaminación de la canal (Van Donkersgoed y col., 1999).

Existen una gran cantidad de estudios en los que queda demostrado que el ganado bovino es portador de *Salmonella* spp.. Uno de ellos es el realizado por Fedorka-Cray y col. (1998), en el cual se analizaron muestras de heces provenientes de diversos feedlots de los Estados Unidos, encontrándose que en el 38% de los planteles existía por lo menos un animal portador a *Salmonella* spp.. Por su parte, Dargatz y col (2003), al igual que el estudio anterior y en el mismo país, analizó muestras de heces de feedlots, encontrando esta vez que en el 50.7% de los planteles muestreados se encontraba por lo menos un animal positivo a *Salmonella* spp.. En ambos estudios no existió un predominio particular de algún serotipo, sin embargo, los mas frecuentes en ambos casos fueron *Salmonella typhimurium*, *Salmonella montevideo* y *Salmonella newport*.

En Chile el consumo per cápita de carne bovina es de 22.4 Kg/habitante, lo que corresponde al 32% del consumo de carne nacional (INE, 2003), por lo que el conocimiento de la frecuencia de presentación de salmonelosis en los bovinos enviados al matadero y posterior consumo humano es sumamente importante, ya que la presencia de *Salmonella* spp. en las fecas puede ser fuente de contaminación de la canal y así pasar la bacteria a la cadena alimentaria. Además, en la décima región del país se concentra la mayor cantidad de bovinos, ocupando el 38.7% de la masa total del país (INE, 2002; Negrón, 2003), y por lo tanto es la zona que aporta con la mayor cantidad de animales destinados al faenamiento, por lo que es el lugar ideal para realizar este estudio.

Considerando lo anteriormente dicho se plantearon los siguientes objetivos:

- Determinar la presencia de *Salmonella* spp. en bovinos aparentemente sanos a partir de muestras obtenidas en una planta faenadora de carnes.
- Aislar *Salmonella* spp. en heces de bovinos y tipificación serológica de las cepas obtenidas.
- Asociar las muestras positivas a *Salmonella* spp. con el origen, tipo y raza de los animales muestreados.

4. MATERIAL Y METODO

4.1 Material.

El siguiente estudio fue realizado con el propósito de responder a los requerimientos de un estudio de bacterias zoonóticas resistentes a antibióticos del proyecto FONDECYT N° 1030857 (*) que considera la obtención de 93 cepas de *Salmonella* spp. En dicho proyecto se señala que la eficiencia técnica para aislar *Salmonella* spp. en heces es de un 30%, por lo que se deberían tomar un mínimo de 320 muestras, pero para aumentar la probabilidad de encontrar muestras positivas se tomaron 414 provenientes de distintos lotes, muestreando un máximo de 10 animales por lote. Las muestras fueron tomadas de animales de procedencia conocida y aparentemente sanos, faenados en la Empresa Procesadora de Carnes del Sur S.A. (FRIVAL) de la ciudad de Valdivia durante el periodo Mayo-Agosto del 2003.

4.2 Método.

Antes del muestreo de los animales, se recopilaron datos con respecto al tipo, raza, región y comuna de procedencia de estos. Las heces fueron obtenidas de la porción final del recto, para lo cual se usaron cucharas desechables estériles con las cuales se cogieron 5-25g de material fecal que fue depositado en un frasco con medio de transporte Cary-Blair®¹. Las muestras debidamente rotuladas fueron transportadas en refrigeración al Laboratorio de Alimentos del Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria de la UACH, donde se procedió a su análisis, utilizando la técnica descrita por Murray y Barton (1993) aplicando el siguiente esquema:

¹ Laboratorio BBL.

* San Martín, B., C. Borie, E. Gesche, M. Morales. 2003. Monitoreo de la resistencia bacteriana en animales de producción.

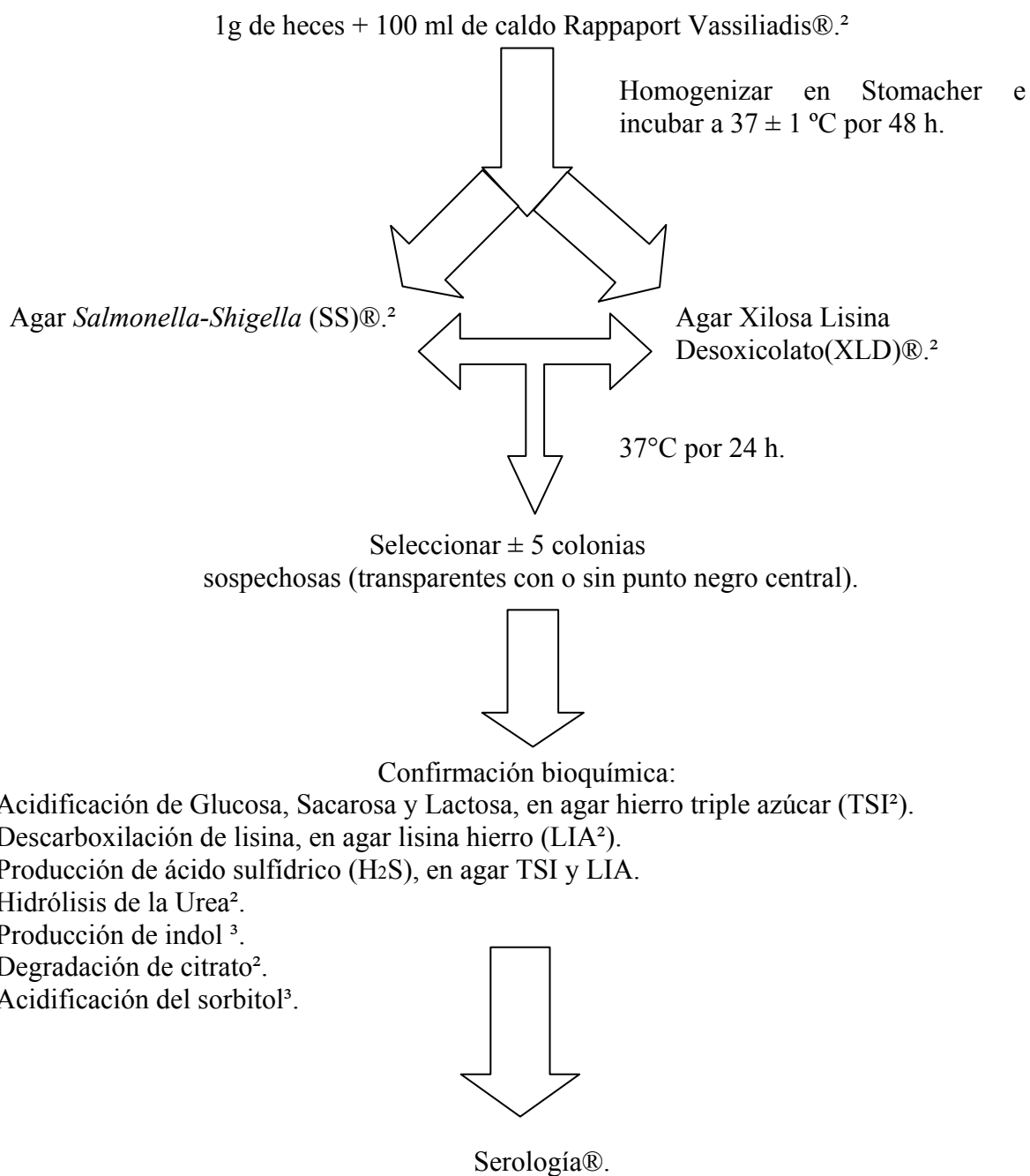


FIGURA N° 1: Técnica de aislamiento de *Salmonella* spp. a partir de heces de bovinos según Murray y Barton (1993).

² Laboratorio Oxoid, S.A.

³ Preparado según Norma Chilena N° 2675 (2001).

Para confirmar la presencia de *Salmonella* spp. se usó la clave señalada por la OMS (2003):

Glucosa	(+)	Sacarosa	(-)
Indol	(-)	Lactosa	(-)
H ₂ S	(+) ó (-)	Lisina	(+)
Urea	(-)	Citrato	(-) o (+)
Sorbitol	(+)		

Las colonias que resultaron como pertenecientes al género *Salmonella* spp. después de las pruebas bioquímica, fueron enviadas al Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) para realizar la tipificación de la especie.

Con el objetivo de ver si las diferencias observadas entre las razas y tipo animal fueron significativas o producto del azar, se utilizó el programa computacional EPIINFO versión 6.0.4.

5. RESULTADOS

5.1 Caracterización de los animales muestreados.

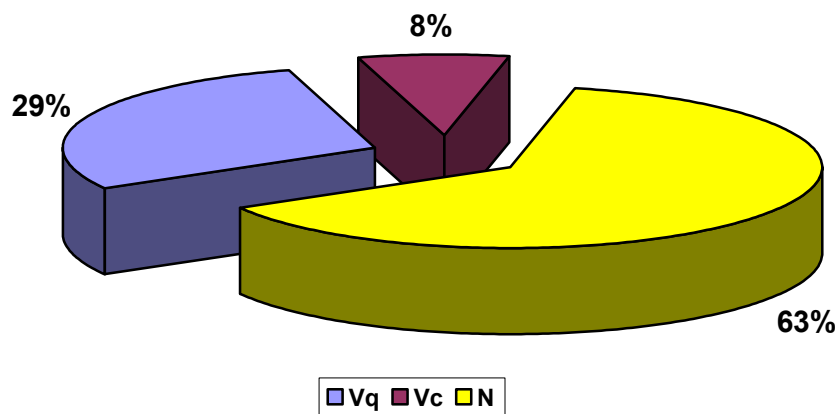


GRAFICO N° 1.

Distribución porcentual del tipo de animal muestreado, clasificados como Vaquillas (Vq), Vaca (Vc) y Novillos (N).

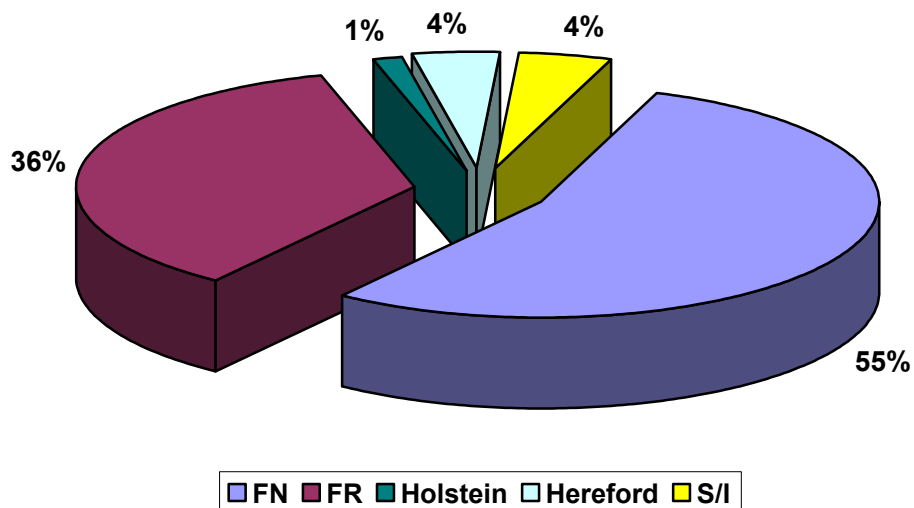


GRAFICO N° 2.

Porcentaje de animales muestreados, clasificados de acuerdo a las razas Frisón Negro (FN), Frisón Rojo (FR), Hereford, Holstein y sin información (s/i).

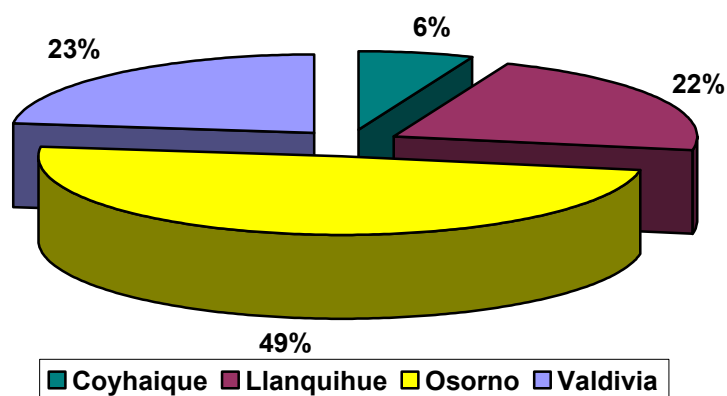


GRAFICO N° 3.
Porcentaje de animales muestreados según provincia de procedencia.

5.2 Caracterización de las muestras positivas.

Se aisló *Salmonella* spp. en 8 de las 414 muestras analizadas, lo que corresponde a una frecuencia de presentación de un 1.9%. De las 8 muestras que resultaron ser *Salmonella* spp., 7 fueron del serotipo *Salmonella panama*, mientras que una sola resultó ser *Salmonella typhimurium*. La caracterización de las 8 muestras positivas se señala en las tablas N° 1, N° 2 y N° 3.

TABLA N° 1.
Número y porcentaje de muestras positivas a *Salmonella* spp., clasificadas de acuerdo a la cantidad de animales muestreados según la provincia de procedencia.

Provincia	N° de animales muestreados	N° de muestras positivas	Porcentaje de muestras positivas (%)
Valdivia	95	1	1.05
Osorno	204	4	1.96
Llanquihue	90	1	1.1
Coyhaique	25	2	8
TOTAL	414	8	-

TABLA N° 2.

Número y porcentaje de muestras positivas a *Salmonella* spp., clasificadas de acuerdo a la cantidad de animales muestreados según el tipo animal.

<i>Tipo</i>	<i>N° de animales muestreados</i>	<i>N° de muestras positivas</i>	Porcentaje de muestras positivas (%)
Vaca	32	0	0
Vaquilla	120	4	3.3
Novillo	262	4	1.5
TOTAL	414	8	-

Sólo se detectaron muestras positivas en vaquillas y novillos y no en vacas, aunque estas diferencias no fueron significativas ($p < 0.05$).

TABLA N° 3.

Número y porcentaje de muestras positivas a *Salmonella* spp., clasificados de acuerdo a la cantidad de animales muestreados según la raza.

<i>Raza</i>	<i>N° de animales muestreados</i>	<i>N° de muestras positivas</i>	Porcentaje de muestras positivas (%)
Frisón Negro	225	4	2.7
Frisón Rojo	148	4	1.7
Hereford	18	0	0
Holstein	5	0	0
Sin información	18	0	0
TOTAL	414	8	-

Sólo se pudo aislar *Salmonella* spp. en las razas Frisón Negro y Frisón Rojo, no así en las demás razas muestreadas, aunque estas diferencias observadas no fueron significativas ($p < 0.05$).

6. DISCUSION

Los datos obtenidos en el presente estudio indican que la frecuencia de presentación de *Salmonella* spp. en las heces de animales aparentemente sanos llegados a una Planta Faenadora de Carnes es baja, ya que sólo 8 de las 414 muestras analizadas, que equivale a un 1.9%, arrojó cultivos positivos a *Salmonella* spp. Este resultado, es concordante con la tasa de infección en los animales domésticos señalada por Acha y Szyfres (2001), la que fluctúa entre 1 a 3%. Por su parte, Dargatz y col. (2000) analizando también muestras de material fecal proveniente de animales aparentemente sanos que llegaban a diversas Plantas Faenadoras de Carnes en los Estados Unidos, encontraron una prevalencia que fue de un 1.4%, que es muy similar a la reportada en el presente trabajo. A su vez, Van Donkersgoed y col. (1999), también analizando material fecal de bovinos llegados a Plantas Faenadoras de Carnes, pero esta vez en Canadá, encontraron una prevalencia que fue tan sólo de un 0.08%, mientras que Fedorka-Cray y col. (1998), analizando muestras de material fecal provenientes de diversos feedlots de los Estados Unidos, señalan que la eliminación de *Salmonella* spp. en estos animales es de un 5.5%. Gay y col. (1994) analizando material fecal de animales de lechería, encontraron que sólo el 0.46% era positivo a *Salmonella* spp.. Los datos anteriormente presentados, indican que la eliminación de *Salmonella* spp. a través de las heces es relativamente baja, puesto que los valores reportados no superan el 5%. Un factor de suma importancia que puede derivar en la baja cantidad de animales positivos, es que la eliminación de *Salmonella* spp. por las heces en los animales portadores no es en forma permanente, sino que intermitente, e incluso en ausencia de signos clínicos; lo que puede influir en la difícil detección de los portadores latentes y la baja cantidad de animales positivos (Wray, 1985; Gay y col., 1994).

Diversos estudios han sugerido que el ayuno, el estrés del transporte y la alta densidad animal antes del sacrificio, puede afectar el número de animales que son detectados como positivos a *Salmonella* spp. El estrés y el uso de prácticas poco higiénicas durante el transporte animal, ha mostrado un impacto sobre la eliminación de *Salmonella* spp. por las heces, resultando en la contaminación del piso del camión y del patio de espera del matadero (Beach y col., 2002a). El efecto provocado por el estrés del transporte queda demostrado en el estudio realizado por Barhman y col. (2002), en el cual se utilizó un grupo de animales al cual se le administró una dieta que contenía *Salmonella* spp. antes de ser enviados al matadero, en que el 18% de estos fue positivo a *Salmonella* spp. y una vez que los animales llegaron al matadero la cantidad de animales positivos aumentó a 43%. En relación a lo anterior, las distancias que recorren los animales es un factor de suma importancia en la eliminación de *Salmonella* spp. a través de la heces. Es así, como los animales que normalmente llegan a FRIVAL para ser faenados recorren aproximadamente 240 Km, que es una distancia relativamente corta comparada con los bovinos que llegan, por ejemplo, a la Planta Faenadora de Carnes “Lo Valledor” en Santiago, donde el 50% de estos animales provienen de distancias superiores a 600 Km (Negrón, 2003). Sólo ocasionalmente FRIVAL recibe animales provenientes de

grandes distancias, como es el caso de los animales que provienen desde Coyhaique (Grafico N° 3), que recorren aproximadamente 844 Km y que por lo tanto sufren un mayor estrés producto del transporte, en comparación con los animales que normalmente llegan a este matadero. Es así, como en los animales que provenían desde Coyhaique, se detectó el mayor porcentaje de animales positivos, en los cuales el 8% resultó ser portador a *Salmonella* spp., comparado con los bajos porcentajes encontrados en los animales procedentes de las otras provincias muestreadas (Tabla N° 1). Esta diferencia en el porcentaje de animales positivos se debe a que los animales que vienen desde Coyhaique recorren grandes distancias para llegar a la Planta Faenadora de Carnes, lo que implica que además de sufrir un gran estrés producto del transporte deben soportar un severo ayuno, que desencadena una mayor eliminación de *Salmonella* spp. por las fecas. En relación al ayuno, Grau y col. (1968) mencionan que *Salmonella* spp. crece en el rumen de los animales cuando estos están en ayunas, pero el crecimiento de la bacteria se detiene cuando se reanuda la alimentación. Esto se debe a cambios en los niveles de ácidos grasos volátiles (AGV), que están vinculados con el crecimiento de *Salmonella* spp. en el rumen. El crecimiento de *Salmonella* spp. es inhibido en el rumen producto de que el alimento consumido por el ganado genera una alta cantidad de AGV, pero durante un periodo de restricción alimentaria prolongada se produce una baja en los niveles de AGV y consecuentemente un aumento en el crecimiento de *Salmonella* spp., y posterior eliminación de estas por las heces (Frost y col., 1988; McEvoy y col., 2003). Esto es lo que sucede en el caso de los animales que llegaban a la Planta Faenadora de Carnes procedentes desde Coyhaique, ya que estos recorren grandes distancias para ser faenados y por lo tanto sufren un ayuno mas prolongado, en comparación con los animales que generalmente llegan al matadero, que provienen distancias cercanas a Valdivia y el periodo de ayuno es mucho menor.

Además, la época del año en que se realizó el estudio influye en la cantidad de muestras positivas que se puedan obtener, ya que la eliminación de *Salmonella* spp. por las heces es mas común durante los meses de primavera-verano, en comparación con los meses de otoño-invierno, que fue la época del año en que se realizó este estudio (Van Donkersgoed y col., 1999; Dargatz y col., 2000; Wells y col., 2001). Esto se debe a que en estos meses se encuentra la temperatura adecuada y otra serie de factores que permiten que *Salmonella* spp. persista en el medio ambiente e infecte a una mayor cantidad de animales. Además prácticas de manejo, como la de esparcir las heces sobre la pradera como forma de abono, pueden influir en una alta prevalencia de *Salmonella* spp. en el predio y por consiguiente en los animales.

Tanto en el grafico N° 2 como en tabla N° 3, se puede observar que la mayoría de los animales muestreados correspondieron a las razas Frisón Negro y Frisón Rojo, y que sólo en estas razas se encontraron animales positivos. El hecho de que animales de las otras razas muestreadas no fueran encontrados como positivos, no es producto de que en estas razas no se encuentre *Salmonella* spp., sino por que la cantidad de animales muestreados fue muy baja para poder detectarlos, ya que la eliminación de *Salmonella* spp. por las heces es muy baja, y esto se puede observar en el porcentaje de animales positivos por raza indicado en la tabla N° 3, en que el 2.7% y 1.7% de los animales de raza Frisón Negro y Frisón Rojo respectivamente

fueron detectados como positivos a *Salmonella* spp., y cuya diferencia versus las otras razas es producto solamente del azar, ya que el análisis estadístico no arrojó diferencias significativas.

Similar a lo que ocurre con las razas, es lo que pasa con el tipo animal, ya que como se puede apreciar en el Grafico N° 1 y en la Tabla N° 2, el novillo fue el animal más muestreado, seguido por las vaquillas y en último lugar las vacas. Además, en la Tabla N° 2 se observa que sólo se pudo aislar *Salmonella* spp. de material fecal de vaquillas y novillos, no así en vacas. Aunque las diferencias observadas en la cantidad de animales positivos, clasificados de acuerdo al tipo animal, no fueron significativas; en la literatura se señala que el estado de portador es más común en los animales jóvenes (Murinda y col., 2002). Por otro lado, el hecho de que no se encontrara *Salmonella* spp. en vacas fue producto de que la cantidad de animales muestreados en esta categoría fue muy baja; aunque Gay y col. (1994) analizando material fecal de vacas de lechería, sólo encontró *Salmonella* spp. en el 0.46%, por lo que se puede deducir que es más probable encontrar *Salmonella* spp. en animales jóvenes, afirmación que se puede apreciar en la tabla N° 2, en la cual el 3.3% y 1.5% de las vaquillas y novillos respectivamente fueron positivos a *Salmonella* spp.

Como se mencionó en los resultados, la serología arrojó que 7 de las 8 muestras fueron *Salmonella panama* y solo 1 de las 8 resultó ser *Salmonella typhimurium*. Los serotipos aislados en el presente estudio difieren de los que comúnmente son reportados en la literatura, salvo *Salmonella typhimurium* que es comúnmente aislado de heces de bovinos. Es así como Fedorka-Cray y col. (1998), Dargatz y col (2000) y Dargatz y col (2003) señalan que en los Estados Unidos los principales serotipos aislados del ganado bovino son *Salmonella typhimurium*, *Salmonella anatum*, *Salmonella montevideo* y *Salmonella newport*. Esta diferencia observada entre los serotipos reportados en la literatura y los encontrados en el presente trabajo, se debe principalmente a que cada serotipo tiene una distribución y ubicación geográfica bien definida, por lo que su detección puede ser más común en ciertos lugares en comparación con otros. Ahora, el alto número de *Salmonella panama* es difícil de explicar, ya que este serotipo no se encuentra muy documentado, y más aún en asociación con los bovinos, aunque la bacteria puede estar presente en el ganado y en otro tipo de animales. Un estudio realizado en 300 cerdos enviados a matadero en la ciudad de Rancagua, se detectó que el 14% de estos eran portadores de *Salmonella* spp. y que de este 14% el 75% era del serotipo *Salmonella panama* (Cordano, 2000). *Salmonella panama* es una bacteria relativamente nueva en Chile y fue reportada por primera vez en el año 1977 y se extendió rápidamente por todo el país. Desde entonces el número de aislamientos en casos clínicos aumentó registrando su máxima incidencia durante el año 1982, después de lo cual el número disminuyó considerablemente. El ingreso de la bacteria al país puede haber sido a través de alimentos importados (aves y otros productos cárnicos), y de esta misma manera se puede haber diseminado la bacteria por todo el país (Cordano y Virgilio, 1996; Cordano, 2000).

Aunque la cantidad de *Salmonella typhimurium* encontrada en el presente estudio es baja, es uno de los serotipos que comúnmente se pueden aislar en las heces de bovinos y se encuentra ampliamente reportada en la literatura (Wray y Sojka. 1977; Bryan, 1981; Gay y col., 1994; Fedorka-Cray y col., 1998; Dargatz y col., 2000; Murinda y col., 2002.; McEvoy y col., 2003). El serotipo *Salmonella typhimurium* está muy difundido entre numerosas especies

de mamíferos y aves, afectando a todos los vertebrados de sangre caliente (Merchant y Packer, 1975). La importancia de este serotipo es el impacto que tiene en la salud pública a nivel mundial, ya que es una de las principales causas de ETA y está principalmente ligada al consumo de carnes rojas (Martin y Smith, 1985; Randall y col., 1997; Zhao y col. 2002). El gran aumento de los casos de salmonelosis humana se debe entre otros factores a la emergencia de serotipos multi-resistentes a antibióticos, como es el caso de *Salmonella typhimurium* DT140. Este serotipo en particular es muy peligroso para la salud mundial, ya que es resistente a ampicilina, cloranfenicol, estreptomina, sulfonamida y tetraciclina; una resistencia adicional al trimetoprim y ciprofloxacino ha sido detectado en algunos aislamientos de *Salmonella typhimurium* DT 104 (Bacon y col., 2002; Kiessling y col., 2002; Sorensen y col., 2002).

Como ya se mencionó en párrafos anteriores, *Salmonella* spp. se encuentra en baja cantidad en las heces, pero además esta junto a una gran cantidad de flora acompañante, que puede actuar como inhibidores del crecimiento de la bacteria. En relación a esto, el laboratorio OXOID (1990) señala que la adición de novobiocina al medio Rappaport-Vassiliadis aumenta la selectividad del medio y por lo tanto disminuye la acción de competencia que genera la flora acompañante; cosa que para los fines de este estudio no fue posible utilizar esta recomendación, ya que las cepas obtenidas serán utilizadas para un posterior estudio de resistencia antibiótica. Del mismo modo, el origen de la muestra puede ser distinto, de esta forma además de las heces se podría utilizar nódulos linfáticos mesentéricos o la bilis, en especial este último, que es donde concentra *Salmonella* spp. en los animales portadores (Frost y col., 1988; Blood y Radostitis, 1992), además de que allí se encuentran sin la acción de la flora acompañante y en una mayor cantidad, por lo tanto sería más probable aislar la bacteria en estudios posteriores de prevalencia de *Salmonella* spp. en bovinos.

De todo lo anteriormente planteado, se puede concluir que *Salmonella* spp. está presente en los bovinos aparentemente sanos que llegan a una Planta Faenadora de Carnes, y que variables como el transporte pueden afectar el número de animales positivos a encontrar. En relación a los serotipos encontrados, ambos son de importancia en la salud pública, ya que los dos pueden originar la presentación de cuadros clínicos de enfermedad en el hombre, por lo tanto es sumamente importante implementar estrategias para la detección y control de *Salmonella* spp. en la industria ganadera y extremar las medidas de higiene durante el faenamiento de los animales para evitar la contaminación de la canal y así poder garantizar un producto seguro al consumidor y con ello disminuir la gran cantidad de casos de salmonelosis que se describen cada año en el mundo.

7. CONCLUSIONES

- *Salmonella* spp. esta presente en el 1.9% del ganado bovino aparentemente sano que llega a una Planta Faenadora de Carnes FRIVAL.
- *Salmonella panama* fue el serotipo de mayormente aislado en el presente estudio, y en menor cantidad *Salmonella typhimurium*.
- La distancia que recorren los animales para llegar a la Planta Faenadora de Carnes es un factor importante en la eliminación de *Salmonella* spp. por la heces.
- Variables como el tipo y la raza no influyen en la cantidad de animales positivos a *Salmonella* spp.

8. BIBLIOGRAFIA

- ACHA, P.N. y B. SZYFRES. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3° ed. Vol I: Bacteriosis y micosis. OPS. Washington. D.C.
- BACON, R.T., J.N. SOFOS, K.E. BELK, D.R. HYATT, G.C. SMITH. 2002. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Salmonella* isolated from beef animal hides and carcasses. *J. Food Prot.* 65: 284-290.
- BARHAM, A.R., B. BARHAM, A. JOHNSON, D.M. ALLEN, J. BLANTON, M. MILLER. 2002. Effects of the transportation of beefcattle from the feedyard to the packing plant on prevalence levels of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* spp. *J. Food Prot.* 65: 208-283.
- BARKOCY-GALLAGHER, G., E. BERRY, M. RIVERA-BETANCOURT, T. ARTHUR, X. NOU, M. KOOHMARAIE. 2002. Development of methods for the recovery of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* from beef carcass sponge samples and bovine fecal and samples. *J. Food Prot.* 65: 1527-1534.
- BEACH, J.C., E.A. MURANO, G.R. ACUFF. 2002 a. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in beef cattle from transport to slaughter. *J. Food Prot.* 65: 1687-1693.
- BEACH, J.C., E.A. MURANO, G.R. ACUFF. 2002 b. Serotyping and antibiotic resistance profiling of *Salmonella* in feedlot and nonfeedlot beef cattle. *J. Food Prot.* 65: 1694-1699.
- BENDER, J.B., S. SREEVATSAN, R.A. ROBINSON, D. OTTERBY. 1997. Animal by-products contaminated with *Salmonella* in the diets of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80: 3064-3067.
- BLOOD, D.C., O.M. RADOSTITIS. 1992. Medicina Veterinaria. 7° ed. editorial Interamericana McGraw-Hill.
- BRYAN, F.L. 1981. Current trends in foodborne salmonellosis in the United State and Canada. *J. Food Prot.* 44: 394-402.
- CORDANO, A.M., R. VIRGILIO. 1996. Evolution of drug resistance in *Salmonella panama* isolates in Chile. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40: 336-341.
- CORDANO, A.M. 2000. Enfermedades infecciosas emergentes. Anales de la Universidad de Chile. VI serie: N° 11, diciembre.

- CORRIER, D.E., C.W. PURDY, J.R. DeLOACH. 1990. Effects of marketing stress on fecal excretion of *Salmonella* spp in feeder calves. *Am. J. Vet. Res.* 51: 866-869.
- DARGATZ, D.A., P.J. FEDORKA-CRAY, S.R. LADELY, K.E. FERRIS. 2000. Survey of *Salmonella* serotypes shed in feces of beef cows and their antimicrobial susceptibility patterns. *J. Food Prot.* 63: 1648-1653.
- DARGATZ, D.A., P.J. FEDORKA-CRAY, S.R. LADELY, C.A. KOPRAL, K.E. FERRIS, M.L. HEADRICK. 2003. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolates from US cattle in feedlots in 1999 and 2000. *J. Appl. Micro.* 95: 753-761.
- DAVIES, P., F. ELISABETH, J. FUNK, W. MORGAN, F.T. JONES, J. DENN. 1998. Isolation of *Salmonella* serotypes from feces of pigs raised in a multiple-site production system. *J.A.V.M.A.* 212: 1925-1929.
- DOYLE, M. P., L.R. BEUCHAT, T.J. MONTVILLE. 2001. Microbiología de los alimentos. Editorial Acirbia S. A. España.
- FEDORKA-CRAY, P.J., D.A. DARGATZ, L.A. THOMAS, J.T. GRAY. 1998. Survey of *Salmonella* serotypes in feedlot cattle. *J. Food Prot.* 61: 525-530.
- FICA, A., A. FERNANDEZ, R.S. PRAT, O. FIGUEROA, R. GAMBOA, I. TSUNEKAWA, I. HEITMANN. 1997. *Salmonella* enteritidis, un patógeno emergente en Chile. *Rev. Med. Chile.* 125: 544-551.
- FROST, A., D. O'BOYLE, J.L. SAMUEL. 1988. The isolation *Salmonella* spp. from feed lot cattle managed under different condition before slaughter. *Aust. Vet. J.* 65: 224-225.
- GAY, J. M., D.H. RICE, J.H. STEIGER. 1994. Prevalence of fecal *Salmonella* shedding by cull dairy cattle marketed in Washington State. *J. Food Prot.* 57: 195-197.
- GRAU, F.H., L.E. BROWNLIE, E.A. ROBERTS. 1968. Effect of some preslaughter treatments on the *Salmonella* population in the bovine rumen and faeces. *J. Appl. Bact.* 31: 157-163.
- HEITMANN, I., J.C. HORMAZABAL, S. PRAT, A. FERNANDEZ. 1999. Laboratorio de Referencias de Enterobacterias Instituto de Salud Pública: *Salmonella –Shigella*, 1998. *El Vigia, boletín de vigilancia epidemiológica de Chile.* 2: 2-5.
- HUSTON, C.L., T. WITTUM, B.C. LOVE, J. KEEN. 2002 a. Prevalence of fecal shedding of *Salmonella* spp in dairy herds. *J.A.V.M.A.* 220: 645-649.
- HUSTON, C.L., T. WITTUM, B.C. LOVE. 2002 b. Persistent fecal *Salmonella* shedding in five dairy herds. *J.A.V.M.A.* 220: 650-655.

- INE. 2002. Anuario de estadísticas agropecuarias 2001-2002.
- INE. 2003. Instituto Nacional de Estadísticas: Evaluación, situación actual y perspectivas de la producción pecuaria nacional, periodo 1997 – 2002.
- JAWETZ, E., J. MELNICK, E. ADELBERG. 2002. Microbiología Médica. 17° Ed. cap 16. Editorial manual moderno. México.
- KIESSLING, C.R., J.H. CUTTING, M. LOFTIS, W.M. KIESSLING, A.R. DATTA, J.N. SOFOS. 2002. Antimicrobial resistance of food-related *Salmonella* isolates, 1999-2000. *J. Food Prot.* 65: 603-608.
- MARTIN, P.A., B.P. SMITH. 1985. Control of salmonellosis in dairy calves. En: International Symposium on *Salmonella*, New Orleans, pp: 194-199.
- McEVOY, J.M., A.M. DOHERTY, J.J. SHERIDAN, I.S. BLAIR, D.A. McDOWELL. 2003. The prevalence of *Salmonella* spp. in bovine faecal, rumen and carcass samples at a commercial abattoir. *J. Appl. Microbiol.* 94: 693-700.
- MERCHANT, I.A., R.A. PACKER. 1975. Bacteriología y virología veterinaria. 2° Ed. Cap: 21. Editorial acribia. Zaragoza.
- MIMS, C.A. 1999. Microbiología Médica. 2° Ed. Editorial Harcourt Brace, Madrid.
- MOATS, W.A. 1981. Update on *Salmonella* in food: Selective plating media and other diagnostic media. *J. Food Prot.* 44: 375-380.
- MURINDA, S.E., L.T. NGUYEN, S.J. IVEY, B. GILLESPIE, R.A. ALMEIDA, F.A. DRAUGHON, S.P. OLIVER. 2002. Molecular characterization of *Salmonella* spp. isolated from bulk tank milk and cull dairy cow fecal samples. *J. Food Prot.* 65: 1100-1105.
- MURRAY, C.J., M. BARTON. 1993. Salmonellosis. Bacteriology. IN Corner, L.A. and T.J. Bagust, Australian Standard Techniques for Animal Diseases editorial CSIRO for the Standing Committee on Agriculture and Resource Management, pp: 3-8.
- NEGRON, R. 2003. Densidades de cargas utilizadas para el transporte comercial de bovinos a nivel regional. Memoria de título. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile.
- O` CARROLL, J.M., P.R. DAVIES, M.T. CORREA, B.D. SLENNING. 1999. Effects of sample storage and delayed secondary enrichment on detection of *Salmonella* spp in swine feces. *A. J. V. R.* 60: 359-362.

- OMS, ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. 2003. Manual de Procedimientos, *Salmonella*: Parte I Aislamiento, identificación y serotipificación. Disponible en: <http://www.panalimentos.org/salmsurv/manual.htm>. Consultado el: 13 de Abril de 2004.
- OMS, ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. 1988. Control de Salmonelosis: importancia de la higiene veterinaria y de los productos de origen animal. Ginebra. Serie de informes técnicos 774.
- OXOID. 1990. The Oxoid manual. 6º ed. Editorial Unipath Limited.
- RANDALL, J.A., R.L. WALKER, D.W. HIRD, P.C. BLANCHARD. 1997. Case-control study of an outbreak of clinical disease attributable to *Salmonella menhaden* infection in eight dairy herds. *J. A. V. M. A.* 210: 528-530.
- RANSOM, J.R., K.E. BELK, R.T. BACON, J.N. SOFOS, J.A. SCANGA, G.C. SMITH. 2002. Comparison of sampling methods for microbiological testing of beef animal rectal/colonal feces, hides, and carcasses. *J. Food Prot.* 65: 621-626.
- SCHLICHT, A. 1997. Comparación de dos técnicas de diagnóstico de *Salmonella* spp. en harina de pescado. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia.
- SORENSEN, O., J. VAN DONKERSGOED, M. McFALL, K. MANNINEN, G. GENSLER, G. OLLIS. 2002. *Salmonella* spp. shedding by Alberta beef cattle and the detection of *Salmonella* spp. in ground beef. *J. Food Prot.* 65: 484-491.
- TAUXE, R. V. 1991. *Salmonella*: a postmodern pathogen. *J. Food Prot.* 54: 563-568.
- TAVECHIO, A., A.C. GHILARDI, J. PERESI, T. FUZIHARA, E. YONAMINE, M. JAKABI, S.A. FERNANDES. 2002. *Salmonella* serotypes isolated from nonhuman sources in Sao Paulo, Brazil, from 1996 through 2000. *J. Food Prot.* 65: 1041-1044.
- VAN DONKERSGOED, J., T. GRAHAM, V. GANNON. 1999. The prevalence of verotoxins, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella* in the feces and rumen of cattle at processing. *Can. Vet. J.* 40: 332-338.
- VLAEMYNCK, G. 1994. The significance of pathogenic microorganisms in raw milk. cap 7. Editado por International Dairy Federation.
- WELLS, S.J., P.J. FEDORKA-CRAY, D.A. DARGATZ, K. FERRIS, A. GREEN. 2001. Fecal shedding of *Salmonella* spp. by dairy cows on farm and at cull cow markets. *J. Food Prot.* 64: 3-11.
- WRAY, C., W.J. SOJKA. 1977. Reviews of the progress of dairy science: bovine salmonellosis. *J. Dairy Research.* 44: 383-425.

- WRAY, C. 1985. *Salmonella dublin* infection of cattle in England and Wales: Its epidemiology and control. En: International Symposium on *Salmonella*, New Orleans, pp: 173-181.
- ZHAO, T., M.P. DOYLE, P.J. FEDORKA-CRAY, P. ZHAO, S. LADELY. 2002. Occurrence of *Salmonella enterica* serotype typhimurium DT104A in retail ground beef. *J. Food Prot.* 65: 43-407.

9. AGRADECIMIENTOS

- A la Dra. Erika Gesche por su apoyo y ayuda durante la realización del presente trabajo.
- A la Srta. Mónica Sáez por su colaboración.
- Al personal del Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria por hacer más agradables las horas de trabajo.
- A mis amigos por su cariño y compañía.