

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**INSTITUTO DE PATOLOGÍA ANIMAL**

**DETECCIÓN DE *Salmonella spp.* EN HUEVOS DE GALLINA COMERCIALIZADOS  
EN FERIAS DE LA CIUDAD DE VALDIVIA**

Memoria de Título presentada como parte  
de los requisitos para optar al TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO.

**MARCELO CLERC TRONCOSO**

**VALDIVIA – CHILE**

**2005**

**PROFESOR PATROCINANTE**

Dr. Jorge Ulloa H.

\_\_\_\_\_  
Firma

**COLABORADOR**

TM. Carlos Hernández M.

\_\_\_\_\_  
Firma

**PROFESORES CALIFICADORES**

Dra. Aída Cubillos G.

\_\_\_\_\_  
Firma

Dr. José de la Vega M.

\_\_\_\_\_  
Firma

**FECHA DE APROBACIÓN:** 04 de Agosto de 2005

## ÍNDICE

	Página
<b>1. RESUMEN</b> .....	1
<b>2. SUMMARY</b> .....	2
<b>3. INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	11
<b>5. RESULTADOS</b> .....	15
<b>6. DISCUSIÓN</b> .....	17
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	20
<b>8. ANEXOS</b> .....	23

## 1. RESUMEN

Entre Noviembre y Diciembre de 2003, se realizó una selección no aleatoria, de 45 muestras, compuestas por 3 huevos de gallinas de campo cada una, comercializados en dos ferias libres de la ciudad de Valdivia, con el objetivo de determinar la existencia de *Salmonella spp.* por medio del análisis de la cáscara y de la yema del huevo.

Se logró aislar *Salmonella spp.* en siete muestras de cáscara, pero no se aisló en ninguna de las muestras de yema.

Las cepas aisladas fueron enviadas al Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) para su serotipificación, confirmándose que todas ellas corresponden a *Salmonella enteritidis*.

El porcentaje de muestras contaminadas con *Salmonella spp.* encontrado, fue de 15,6%, valor muy por sobre el uno por ciento (1%) informado por otros autores, en huevos procedentes de criaderos industriales, comercializados en supermercados y comercio establecido. Además, los resultados de esta investigación muestran que *Salmonella enteritidis* continúa siendo el serotipo más comúnmente aislado en huevos en el país.

---

Palabras clave: Huevos; Feria; *Salmonella enteritidis*.

## 2. SUMMARY

### DETECTION OF *Salmonella spp.* IN HEN'S EGGS COMMERCIALIZED IN OPEN MARKETS OF VALDIVIA CITY

Between November and December 2003, it was carried out a not random selection of 45 samples, constituted by 3 eggs each, coming from countryside hens, commercialized in two open markets of Valdivia City, with the purpose to establish the existence of *Salmonella spp.* by means of the analysis of shell and yolk of the selected eggs.

In seven (7) shell samples it was able to isolate *Salmonella spp.*, but none was isolated from the samples got from the yolk.

The isolated stocks were forwarded to the Chilean Public Health Institute (ISP), to state the serotype, being confirmed that all them belong to *Salmonella enteritidis*.

The rate of samples contaminated with *Salmonella enteritidis* found, 15,6 %, was well above the one per cent (1%) described by other authors, as it has been found in hen's eggs coming from industrial breeding places and commercialized in supermarkets and established shops. The result of this investigation shows that *Salmonella enteritidis* continues being the most commonly isolated serotype from eggs in the country.

### 3. INTRODUCCIÓN

Numerosas son las enfermedades que afectan tanto al hombre como a los animales. La relación que entre ellos existe, hace posible la existencia de las zoonosis, muchas de las cuales caben en la categoría de las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs). Se han descrito alrededor de 250 agentes causantes de ETAs, entre los que se incluyen bacterias, virus, hongos, parásitos, priones, toxinas y metales (Prado y col 2002).

A partir de 1994 el Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente (SESMA) inició la vigilancia epidemiológica de los brotes de ETAs en coordinación con los servicios asistenciales de salud. Desde entonces las notificaciones han ido en aumento, desde 86 en 1994 hasta 260 en el año 2000 (Prado y col 2002).

Entre los agentes causales de zoonosis de origen alimentario destacan las bacterias, que son microorganismos unicelulares, procarióticos, con una pared celular rígida situada por fuera de su membrana celular y una gran capacidad reproductiva (Blood y Studdert 1999).

Entre las bacterias destaca *Salmonella spp.*, que causa en el hombre diarreas, vómitos, cefaleas y gastroenteritis aguda (Chile 2003). La Organización Mundial de la Salud considera al género *Salmonella* como una de las principales causas de ETAs en el mundo (FAO/OMS 2002).

Las bacterias del género *Salmonella* pertenecen a la familia Enterobacteriaceae y de acuerdo a sus características bioquímicas se diferencian 5 subgéneros y más de 2400 serotipos (Gast 2003), que presentan diferencias en patogenicidad. Son bacilos Gram negativos, aerobios facultativos (Chile 2004), muchos poseen flagelos y pili (Blood y Studdert 1999), además, poseen algunas características bioquímicas que permiten incluirlos en el nivel taxonómico de fermentadores de glucosa, catalasa positivo y oxidasa negativo (González 2003).

Desde el punto de vista de la adaptación de *Salmonella* al huésped, según el Ministerio de Salud de Chile (Chile 1998) se pueden distinguir 3 tipos:

- A Patógenos exclusivos del hombre, tales como *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi*, las cuales, debido a su alta adaptación a los seres humanos, no son patógenas para los animales domésticos.
- B Patógenos exclusivos de los animales, tales como *Salmonella pullorum* y *Salmonella gallinarum*, propias de las aves y que normalmente no producen enfermedad en los seres humanos.
- C Un grupo que no muestra adaptación a una especie en particular, capaz de pasar de los animales al hombre y producir enfermedades, entre las que destacan *Salmonella*

*typhimurium*, asociadas a las ratas; *Salmonella choleraesuis*, asociadas a los cerdos y *Salmonella enteritidis* a las aves.

En Chile, los antecedentes históricos indican que la incidencia de salmonelosis se vio incrementada, estimándose que los casos anuales iban desde 740.000 a 5.000.000, de los cuales no más del 1% era detectado (Chile 2004). La vigilancia epidemiológica de las intoxicaciones alimentarias, realizada en la región Metropolitana por el SESMA, ha permitido desde 1996 identificar numerosos brotes debidos a este agente (Chile 2003).

Durante 1997, los antecedentes internacionales indican una incidencia estimada de salmonelosis de entre 14 y 120 casos por 100.000 personas (Tabla 1).

**Tabla 1.** Incidencia anual estimada de salmonelosis en humanos durante 1997, en diferentes países.

Países	Casos por 100 000 habitantes
Australia	38
Alemania	120
Japón	73
Países Bajos	16
Estados Unidos	14

(FAO/OMS 2002).

Los Centros de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos estiman que todos los años se producen en ese país 1,4 millones de casos, 16.430 hospitalizaciones y 582 muertes a causa de infecciones por *Salmonella* (Mead y col 1999). Del número total de casos se calcula que el 96% es de origen alimentario (FAO/OMS 2002).

Durante muchas décadas, la infección por *Salmonella spp.* en Chile estuvo dominada epidemiológicamente por la fiebre tifoidea, una enfermedad asociada mayoritariamente a *S. typhi* y en menor grado a los serotipos *S. paratyphi* A, B o C. Las tasas de incidencia eran estables, oscilando ente 40 y 50 casos por 100.000 habitantes (Fica y col 2001). *S. typhi* representó hasta el año 1993 el serotipo más frecuentemente identificado por el laboratorio del ambiente del Instituto de Salud Pública (Heitmann y col 1999).

La fiebre tifoidea es una enfermedad sistémica, prolongada, producida por un conjunto de salmonelas que involucran mayoritariamente a *S. typhi*, con bacteremia cíclica, que sin intervención se prolonga durante cuatro semanas. Es capaz de provocar la muerte en 10% de los casos, si los pacientes no reciben tratamiento antimicrobiano adecuado. Se adquiere a través de agua o alimentos contaminados y tiene un período de incubación de aproximadamente 11 días. Su reservorio natural es el hombre, que contamina el ambiente por la excreción intermitente de estas salmonela desde la vesícula biliar. Los portadores de *S. typhi* son generalmente asintomáticos (Fica y col 2001).

Esta enfermedad está estrechamente ligada a las deficiencias de saneamiento ambiental, analfabetismo, pobreza y en general, a la falta de desarrollo humano en una región. Estos factores son importantes en su perpetuación porque facilitan la contaminación de agua y alimentos por portadores crónicos que eliminan *S. typhi* en sus deposiciones, manteniendo la cadena de transmisión hacia nuevos huéspedes susceptibles (Fica y col 2001).

Durante la última década, la fiebre tifoidea ha presentado una ostensible declinación en sus tasas de presentación, muy ligada a los cambios globales en el bienestar de las personas en Chile en los últimos años y a cambios importantes en educación (y por lo tanto en higiene personal), en cobertura de agua potable, alcantarillado, manejo de basuras y en la superación progresiva de la pobreza (Fica y col 2001).

Desafortunadamente, la disminución de esta enfermedad no ha significado la desaparición de *Salmonella spp.* como agente de enfermedad en el país. Más bien, *S. typhi* ha sido reemplazada por el serotipo *S. enteritidis* (Fica y col 2001). Desde 1994 *S. enteritidis* a presentado un alza progresiva en su diagnóstico, constituyendo en 1998 un 69% del total de cepas clínicas serotipificadas (Heitmann y col 1999).

Las tasas de notificación aumentaron de 0,35 casos por cada 100.000 habitantes en períodos pre epidémicos, a 3,41 y 3,04 casos por cada 100.000 habitantes en 1994 y 1995 (Fica y col 1997).

En un estudio en que se analizaron muestras de procedencia humana, animal, de alimentos, forrajes y medio ambiente, *S. enteritidis* resultó ser el serotipo más común en Sudamérica (44,6%) durante el año 2000 (WHO 2000).

El principal reservorio de *S. enteritidis* son las aves, tanto domésticas como silvestres. Las aves silvestres, por su cantidad, ubicación geográfica y dinámica poblacional presentan un alto riesgo epidemiológico que debe ser evaluado en todo programa de control. Gaviotas, palomas, pavos, patos, loros y una gran variedad de aves costeras han demostrado ser reservorio intestinal de *S. enteritidis*, y con ello, un factor de diseminación adicional (Gast 2003).

La intoxicación por *S. enteritidis* cursa un cuadro clínico que se caracteriza por un período de incubación de alrededor de 18 horas, con diarreas en el 100% de los casos. Alrededor del 40% de los enfermos presenta disentería. El 90% de los enfermos presenta fiebre entre 38 – 39 °C, dolor abdominal intenso tipo cólico, náuseas, vómitos y, consecuentemente, deshidratación. El curso de la enfermedad es en promedio de 8 días y aunque la letalidad es muy baja, se pueden producir cuadros severos en niños, ancianos y personas con niveles de inmunidad disminuidos (Chile 1998). Las infecciones por *S. enteritidis* no tienen un perfil hospitalario, ya que rara vez se acompañan de complicaciones potencialmente letales, por lo que básicamente son una causa de diarrea de manejo ambulatorio (Fica y col 2001). Por otra parte, a diferencia de lo observado a nivel mundial, las cepas de *S. enteritidis* aisladas en el país han demostrado un alto porcentaje de sensibilidad frente a antibióticos tradicionales (Borie 2002).



Las infecciones están asociadas principalmente al consumo de huevos y productos derivados contaminados, tales como mayonesas de elaboración propia, merengues, alimentos de banquetes y postres de leche entre otros (Alexandre y col 2000). Los huevos de gallina son una de las principales fuentes del agente patógeno, lo que se ha atribuido a la excepcional capacidad de *S. enteritidis* para colonizar el tejido ovárico de las gallinas y estar presente en el contenido de los huevos con cáscara intacta (FAO/OMS 2002).

Esta bacteria causa infecciones en el ser humano en forma endémica o en brotes epidémicos de intoxicación alimentaria que abarcan, en ocasiones, amplias zonas geográficas (Alexandre y col 2000), probablemente debido al importante papel que desempeñan los huevos y las aves de corral como vehículos en casos humanos de salmonelosis (FAO/OMS 2002).

El Comité del Codex Alimentarius sobre Higiene de los Alimentos en su 32ª reunión, celebrada en Diciembre de 1999, determinó que *Salmonella* en los huevos y en las aves de corral eran las dos grandes prioridades de su lista de 21 combinaciones de patógenos-productos alimenticios que más preocupación causaban para la salud pública y el comercio internacional de alimentos (FAO/OMS 2002).

Según la Asociación de Productores de Huevos de Chile, durante 2004, el consumo aparente de huevos en el país llegó a 166 unidades *per cápita* (9,96 kg), consumo que se incrementó en 1 kilo por habitante desde 1990\*. El alto consumo de huevos indica un elevado riesgo de exposición de la población a *Salmonella* (Alexandre y col 2000).

La aparición de *S. enteritidis* y su estabilización endémica están ligadas a cambios industriales específicos ocurridos en la década de los 80 (Fica y col 2001). En un principio, *S. enteritidis* apareció como una infección emergente en el país debido principalmente a que por una parte, la industria avícola cambió desde un perfil atomizado de proveedores artesanales y de pequeñas y medianas empresas en los años 70, hacia una centralización en los años 90, con grandes empresas que acapararon la mayor parte del mercado nacional (Fica y col 2001).

En la actualidad, existen 173 productores de huevos distribuidos a lo largo del país. La Asociación Nacional de Productores de Huevo reúne en Chile a cerca de 100 empresas productoras, que satisfacen más de 90% del consumo nacional (Fica y col 2001). El 48,2% de la población avícola se concentra en la Región Metropolitana y el 19,8% en la Quinta Región, el restante a lo largo del país. La masa total de aves en producción es de 10.170.693, de las cuales el 73% corresponde a gallinas blancas y el 27% a gallinas de color\*.

Esta centralización implica que una gran cantidad de aves de postura comparta alimentos, un hábitat y microorganismos comunes. La crianza intensiva en galpones facilita la diseminación de patógenos y la contaminación e infección de un gran número de aves. Además, los productos obtenidos de esta industria centralizada, forzosamente deben participar en extensas

---

\* Comunicación personal Sr. Luis G. Andrade R. Gerente Asociación de productores de huevos de Chile, 2005.

cadena de distribución comercial, lo que permite al patógeno alcanzar múltiples y distantes puntos del territorio nacional (Fica y col 2001).

Por otra parte, la tecnificación de la industria avícola ha permitido el reemplazo de los alimentos naturales de las aves, por alimentos triturados como maíz, triticale y soya, que además son mezclados facilitando la diseminación de posibles contaminantes (Fica y col 2001).

Las autoridades de salud están permanentemente preocupadas del control de *Salmonella spp.*, realizando estudios periódicos de presencia de este agente en pollos y productos de origen aviar. Las investigaciones han demostrado que el problema está controlado en los grandes centros de producción y faenamiento (Chile 2003).

Aunque el ovario y el oviducto de las gallinas de postura son considerados estériles, y por tanto, antes de la postura se consideran estériles también las partes internas del huevo, es posible que *Salmonella spp.* colonice los órganos reproductivos del ave y de este modo, alcance también las estructuras internas del huevo, aún antes de ser completamente formado (Backer y col 1980). Por transmisión vertical los microorganismos entran en los huevos desde los ovarios o el tejido del oviducto infectado antes de la formación de la cáscara (FAO/OMS 2002). El hallazgo de *S. enteritidis* en la yema del huevo y no en su superficie, respalda el concepto de contaminación transovárica del huevo (Alexandre y col 2000).

La producción de huevos contaminados, aunque se produzca de manera intermitente, está ligada generalmente a aves asintomáticas (Chile 1998), lo que impide su reconocimiento *a priori*. Por otra parte, la contaminación transovárica del huevo, sin la presencia de *S. enteritidis* en la superficie, permite que se generen verdaderos vectores biológicos, de duración prolongada, indetectables y que además pueden ser consumidos a distancia (Fica y col 2001). Los huevos con la yema contaminada podrían permitir una proliferación más rápida de *S. enteritidis* en su interior en comparación con aquellos que solo tienen contaminación en su cáscara (FAO/OMS 2002).

La probabilidad de que aparezca un huevo contaminado por *S. enteritidis* depende de la prevalencia de la infección en la parvada y la frecuencia con que las gallinas infectadas ponen huevos contaminados. Esta prevalencia (es decir, la probabilidad de que una parvada contenga una o más gallinas infectadas) depende además de los factores por los que se introduce *S. enteritidis* en un grupo de aves (por ejemplo, en gallinas jóvenes de reposición, presencia residual del agente patógeno en el entorno, procedente de anteriores parvadas infectadas, contaminación del pienso, entre otros) (FAO/OMS 2002).

Como generalmente *Salmonella* está confinada al tracto intestinal de la gallina y al parecer raramente infecta el ovario, puede contaminar la cáscara del huevo durante la postura, desde excrementos o nidos con heces, pero es muy improbable que la yema se contamine a menos que el ovario esté contaminado, puesto que la alcalinidad de la clara puede inhibir el crecimiento bacteriano (Backer y col 1980; Leyva y col 1996). Una vez en la cáscara del

huevo, el microorganismo puede penetrarla, sin embargo para esto requiere de varios días (Backer y col 1980).

La transmisión horizontal suele deberse a la contaminación fecal de la cáscara o a vectores ambientales, como los criadores, los animales domésticos o los roedores. La transmisión vertical se considera la principal vía de contaminación por *Salmonella spp.* y resulta la más difícil de combatir, mientras que la transmisión horizontal puede reducirse eficazmente mediante medidas de limpieza y desinfección del entorno y la cáscara (FAO/OMS 2002), por ello, a nivel internacional, la industria avícola ha intentado disminuir el riesgo de contaminación mediante diversas estrategias de lavado del huevo. Sin embargo, en nuestro país coexisten diferentes realidades, permitiendo la comercialización de huevos con restos de heces en su superficie o incluso huevos quebrados a un precio menor. Esta situación es crítica porque estas condiciones facilitan la entrada de microorganismos, los que se multiplican y logran una alta dosis infectante (Alexandre y col 2000).

La baja carga bacteriana de *S. enteritidis* que inicialmente contamina los huevos tiene oportunidades de amplificarse a medida que transcurren los días desde la postura. Esto por agotamiento de los mecanismos naturales de control microbiológico del huevo, especialmente si no se incorporan cadenas de frío que inhiban el crecimiento bacteriano y por ende, la dosis infectante antes del consumo. Chile permite la comercialización del huevo hasta un mes desde su fecha de elaboración, pero no incorpora la obligación de contar con cadenas de frío desde su producción. La importancia de la refrigeración como forma de control de *S. enteritidis* ha sido establecida en varios estudios que demuestran que el enfriamiento y el almacenamiento a bajas temperaturas protegen a los huevos de su penetración. En contraste, el almacenamiento a temperatura ambiente permite la penetración de este agente en tan sólo 3 días. La capacidad de penetración de *S. enteritidis* está correlacionada también con el nivel de contaminación superficial y el tiempo transcurrido desde la oviposición (Alexandre y col 2000).

Se ha observado que las variaciones de tiempo y temperatura de almacenamiento de los huevos desde la producción hasta el consumo coinciden con grandes variaciones en el riesgo previsto de enfermedad humana. El riesgo de enfermedad por huevo contaminado consumido parece no guardar relación con el número de organismos de *S. enteritidis* presentes en los huevos contaminados al momento de la postura. Esto puede deberse a que el efecto de la proliferación de *S. enteritidis*, es mayor que el grado inicial de contaminación en los huevos (FAO/OMS 2002).

La dosis consumida en un alimento que contiene huevo depende del grado de proliferación de *S. enteritidis* entre el momento de la puesta y el de la preparación y consumo del alimento, así como de la forma en que el huevo fue preparado y cocinado. La proliferación en los huevos contaminados depende del tiempo y la temperatura de almacenamiento (FAO/OMS 2002).

En un estudio realizado en huevos expendidos por supermercados en la región Metropolitana, Alexandre y col (2000) determinaron una frecuencia de contaminación por *S. enteritidis* de

0,09% en la fracción correspondiente a la yema del huevo y 0% en la cáscara de los huevos estudiados.

En Cuba, Leyva y col (1996) encontraron presencia de *Salmonella spp.* en 0,6% de las muestras de cáscara de huevos de gallinas, sin pesquisarla en su interior. Chapman y col (1988), estudiando huevos procedentes de 11 granjas en Sheffield, Inglaterra, aislaron *Salmonella spp.* en 5 de ellas.

Estudios en Inglaterra y Gales indican una frecuencia de contaminación de los huevos por *S. enteritidis* de 0,00014%, en Estados Unidos de 0,01% y otros estudios han encontrado valores cercanos al 1% (Henzler y col 1994). Estas variaciones, en parte son explicadas por la metodología empleada, la que puede estar enfocada a conocer el nivel de contaminación en huevos de planteles infectados, a estimaciones nacionales o a estudios en muestras tomadas al azar (Alexandre y col 2000).

Según Backer y col (1980), numerosos estudios de varios países han demostrado que menos del 1% de los huevos están contaminados en su cáscara con *Salmonella spp.*, sin embargo, se ha probado que los productos derivados de los huevos están contaminados en un porcentaje mucho más alto, esto sin duda, causado por la contaminación de los equipos utilizados en su procesamiento por algunos pocos huevos, contaminación que luego es transmitida al resto de la producción, haciendo de esta forma sumamente necesario el control sanitario de los huevos que son utilizados como materia prima para distintos productos alimenticios.

En un estudio realizado con muestras recolectadas entre 1975 y 1996 se encontró que solo 6% de los brotes de infecciones por *S. enteritidis* en la región Metropolitana aparecía asociados a carne de ave, lo que contrastaba con el 40% de brotes asociados al consumo de alimentos que contienen huevo o que son derivados de él (Prat y col 2001).

El conocimiento de estos riesgos ha motivado la búsqueda de distintas estrategias de control. Los esfuerzos de control en los criaderos han incluido la separación física de las aves mediante jaulas, el manejo de excretas, la provisión de agua y alimentos libres de contaminación, el uso de vacunas, la administración de antibióticos, tratamiento por exclusión competitiva, la rápida recolección de los huevos postpostura, el lavado de la superficie del huevo y el enfriamiento posterior. Estos enfoques limitan el número de aves expuestas, disminuyen las posibilidades de contaminación transovárica o en la oviposición, interfieren con la contaminación cruzada del huevo, disminuyen la contaminación superficial de ellos e inhiben la replicación bacteriana (Fica y col 2001; Gast 2003).

La específica asociación de *Salmonella* con un reservorio avícola limita los tipos de alimentos que aparecen implicados en su diseminación, los que además deben estar inadecuadamente preparados, debido a la ausencia de toxinas termoestables en *S. enteritidis*. Ello determina la fuerte asociación de las infecciones por este agente con productos derivados, como la mayonesa o huevos parcialmente cocidos que son servidos luego de permanecer varias horas

desde su preparación, facilitando la multiplicación bacteriana, especialmente si no se han mantenido en forma refrigerada (Fica y col 2001).

Aunque en Chile, la muerte por esta enfermedad es muy poco frecuente (Chile<sup>b</sup> 2002), durante el año 2000 *Salmonella spp.* fue identificada como el agente etiológico más frecuente en los brotes de ETAs. Estos ocurrieron principalmente por alimentos preparados en el hogar, siendo la carne de ave y los huevos, sin la cocción adecuada, las principales fuentes de infección (Prado y col 2002).

En Chile, durante 1999 solo se registró una muerte por brotes de ETAs. El agente identificado fue *S. typhi* asociado a consumo de carne de cerdo. Durante el año 2000 ocurrieron dos muertes por brotes de ETAs; una de ellas se debió a un brote por *S. enteritidis* como consecuencia de consumo de mayonesa casera y en el otro no se logró identificar el agente causal (Prado y col 2002).

En los últimos años, debido principalmente a las campañas educativas de las autoridades de salud, destinadas a una correcta manipulación, almacenamiento y cocción de alimentos, han disminuido los brotes de intoxicaciones por *S. enteritidis* (Chile 2003). No obstante esto, se debe considerar la muy probable subnotificación de brotes existente en Chile debido a que la gran mayoría de las personas no busca atención médica y no realiza la denuncia cuando la sintomatología no es severa. Por su parte los profesionales de los servicios de salud, especialmente en los servicios de urgencia no se sienten motivados a efectuar la notificación, restándole prioridad dentro de sus tareas asistenciales. Las falencias en la oportunidad con que se notifican los brotes dificulta realizar el estudio etiológico, ya que en muchas ocasiones la notificación es tardía y no es posible recolectar muestras de alimentos o de los pacientes (Fica y col 2001, Prado y col 2002). Es necesario recordar que esta enfermedad no es de notificación obligatoria (Chile 1999)

Debido a que las medidas de control y prevención orientadas a la producción y comercialización de huevos están centradas en los grandes planteles productores, se hace necesario el estudiar el estado sanitario de aquellos huevos que llegan a los consumidores por otras vías menos formales, como por ejemplo aquellos huevos provenientes de parvadas de pequeños productores, que generalmente manejan a sus aves libres y que se comercializan preferentemente a nivel de ferias. Esto también, debido a la importancia de las infecciones con *Salmonella spp.* en la salud de la población, su estrecha relación con productos avícolas y la ausencia de medidas terapéuticas efectivas para combatirlas (Alexandre y col 2000).

Según el censo del año 2002, la población de la X Región de los Lagos ascendía a 1.073.135 habitantes distribuidos en 67.013,1 Km<sup>2</sup>. La comuna de Valdivia contaba con una población de 140.559 habitantes y una superficie de 1015,6 Km<sup>2</sup>. De estos 129.952 vivían en el radio urbano y 10.607 en áreas rurales (Chile<sup>c</sup> 2002). Considerando que en el 2004, el consumo aparente de huevos en Chile fue de 166 unidades por persona, es posible estimar un consumo anual de aproximadamente 23 millones de huevos en la comuna de Valdivia, sin embargo, estos antecedentes no permiten estimar cuantos proceden de gallinas de campo y cuantos de

planteles de producción comercial, siendo por esto necesario conocer el estado sanitario de las distintas opciones entre las que pueden elegir los consumidores.

En el presente trabajo se pretende aislar e identificar *Salmonella spp.* en muestras de huevos de gallinas de campo comercializados en dos ferias de Valdivia, con el fin de aportar antecedentes sobre el estado sanitario del producto.

A partir de los antecedentes presentados, en esta investigación se han planteado las siguientes hipótesis de trabajo:

Hipótesis:

Los huevos de campo comercializados en ferias de Valdivia presentan una contaminación con *Salmonella* mayor a un 1%.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1 MATERIALES

#### 4.1.1 Material Biológico:

- 135 huevos de gallina, agrupados en 45 muestras de 3 huevos cada una, comercializados en dos ferias de la ciudad de Valdivia (1 y 2).

#### 4.1.2 Material de Laboratorio:

- Guantes de látex
- Frascos de vidrio de boca ancha
- Bolsas de polietileno de 26,5 x 30 cm.
- Pipetas graduadas
- Tubos de ensayo
- Placas Petri
- Asa de cultivo
- Caldo peptona<sup>1</sup>
- Alcohol al 95%
- Caldo Rappaport-Vassiliadis®<sup>2</sup>
- Agar Xilosa Lisina Desoxicolato®<sup>2</sup> (XLD)
- Agar triple azúcar/hierro (TSI)
- Agar urea
- Caldo descarboxilación de L-Lisina
- Reactivo para la detección de B-galactosidasa
- Caldo para la reacción Voges-Proskauer (RM-VP)
- Caldo para la reacción Indol
- Sorbitol (acidificación)
- Incubadora National
- Baño María Kottermann
- Bandejas de cartón para recolección de huevos y bolsas plásticas.
- Fichas para recolección de datos (Anexo 1)

---

<sup>1</sup> Preparado según González, M. (González 2003)

<sup>2</sup> Laboratorio Merck, S.A.

## 4.2 MÉTODO

### 4.2.1 Diseño Muestral

Entre Noviembre y Diciembre de 2003, durante 4 fines de semana consecutivos, se realizó una selección no aleatoria de 45 muestras, compuestas por 3 huevos de gallinas de campo cada una, con el objetivo de determinar la existencia de *Salmonella spp.* por medio del análisis de la cáscara y de la yema del huevo. Los huevos fueron comprados en dos ferias libres de la ciudad de Valdivia, adquiriendo un total 135 huevos. Los puestos de las ferias en que se comercializaban los huevos, no necesariamente disponían de estos en todas las ocasiones en que se realizaron los muestreos, siendo su oferta variable de una semana a la siguiente y por ende, el número de muestras tomadas por semana fue variable. Los huevos se transportaron en bandejas de cartón o en bolsas plásticas proporcionadas por los mismos comerciantes.

Conjuntamente se recabaron antecedentes concernientes a la procedencia de los huevos y a la comercialización de otros productos en el mismo local de venta, que fueron registrados en una ficha (Anexo 1).

El tamaño muestral se estimó asumiendo un nivel de confianza de un 95%, con una prevalencia esperada del 3% y un error menor a un 5%, de acuerdo al método descrito por Ernst y Tadich (1996).

El tamaño de muestra necesario para estimar una proporción (prevalencia) en una población infinita (grande) se cálculo utilizando la fórmula:

$$n = \frac{p(1-p)Z^2}{e^2}$$

donde

n	=	tamaño de muestra calculado	
p	=	prevalencia esperada	= 0,03
Z	=	coeficiente de confianza	= 1,96
e	=	precisión	= 0,05

Dando como resultado un tamaño muestral (n) igual a 45.

Se decidió trabajar con 3 unidades por cada muestra, siguiendo el esquema utilizado por Leyva y col. (1996), recolectándose un total de 135 huevos, para conformar las 45 muestras analizadas.

Los huevos fueron recolectados e identificados, junto a información respecto del manejo de las gallinas productoras, otros productos comercializados en el puesto y otros datos pertinentes (Anexo 1), los huevos se transportaron al laboratorio de Producción y Patología Aviar del Instituto de Patología Animal de la Universidad Austral de Chile, donde se procedió a aislar *Salmonella spp.* desde cáscaras y yemas de huevo, agrupadas en número de 3.



## 4.2.2 Aislamiento e identificación

Se siguió el procedimiento descrito por González (2003)

### 4.2.2.1 Desde la cáscara:

**4.2.2.1.1 Pre-enriquecimiento:** Cada grupo de huevos fue depositado en una bolsa de polietileno estéril y se agregó 150 ml de caldo Peptona para cubrirlos. Se agitó y frotó suavemente el exterior de la bolsa por 1 minuto para desprender las bacterias al medio. Se removieron los huevos asépticamente, se selló la bolsa e incubó a 37° C por 24 horas.

**4.2.2.1.2 Enriquecimiento selectivo:** Posterior a la incubación, se tomó 0,1 ml del cultivo y se adicionó a 9,9 ml de caldo Rappaport Vassiliadis, cultivándose a baño María a 42° C por 24 horas.

**4.2.2.1.3 Medio selectivo diferencial:** Del cultivo en caldo Rappaport Vassiliadis se sembró una alícuota en agar XLD, cultivándose a 37° C por 24 horas.

En este agar, las características de crecimiento esperadas para *Salmonella spp.* son colonias transparentes (color del medio), con o sin hidrógeno sulfurado (H<sub>2</sub>S), el que se visualiza como un precipitado negro.

**4.2.2.1.4 Confirmación Bioquímica:** Las colonias sospechosas obtenidas del agar XLD fueron confirmadas como *Salmonella spp.* a través de pruebas bioquímicas realizadas en el laboratorio de Alimentos del Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria de la UACH.

En este laboratorio, la confirmación se realizó siguiendo la norma chilena oficial del Instituto Nacional de Normalización mediante las siguientes pruebas (Tabla 2):

**Tabla 2.** Pruebas bioquímicas realizadas para la identificación de *Salmonella spp.*

Prueba	Reacción <i>Salmonella spp.</i>
Degradación de glucosa (formación de ácido) en agar triple azúcar / hierro (TSI)	(+)
Degradación de glucosa (formación de gas) en agar TSI	(+)
Degradación de lactosa en agar TSI	(-)
Degradación de sacarosa en agar TSI	(-)
Formación de sulfuro de hidrógeno en agar TSI	(+)
Degradación de urea	(-)
Decarboxilación de L-Lisina en caldo decarboxilación de L-Lisina o en Agar hierro lisina (LIA)	(+)
Reacción – Galactosidasa	(-)
Reacción Voges Proskauer	(-)
Reacción Indol	(-)

(Chile<sup>a</sup> 2002)

Mediante estas pruebas bioquímicas se puede identificar las cepas aisladas hasta el nivel de género.

#### **4.2.2.2 Desde la yema**

**4.2.2.2.1 Esterilización de la cáscara:** Luego de la toma de muestra desde la cáscara, se sumergió cada huevo en alcohol al 95% y se flameó su superficie.

**4.2.2.2.2 Obtención de la yema y pre-enriquecimiento:** Cada huevo del grupo se quebró asépticamente y se depositó su contenido en una placa Petri, posteriormente las yemas fueron separadas de la clara, procediendo a su homogeneización. De esta mezcla se obtuvieron 3 ml de yema, que fueron sembrados en un frasco con 27 ml de caldo Peptona e incubados a 37 °C por 24 horas.

**4.2.2.2.3 Medio selectivo diferencial:** Al igual que con las muestras obtenidas desde la cáscara, del cultivo en caldo Rappaport Vassiliadis se sembró una alícuota en agar XLD, cultivándose a 37 °C por 24 horas.

Posteriormente, se siguió el mismo procedimiento que con las muestras obtenidas a partir de la cáscara.

#### **4.2.3 Serotipificación:**

Las cepas identificadas como *Salmonella spp.* se enviaron al Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) para su serotipificación.

## 5. RESULTADOS

En 7 de las 45 muestras de cáscara analizadas (15,6%) se pesquiso la presencia de *Salmonella spp.* En ninguna de las yemas examinadas se detecto la presencia de la bacteria.

En la tabla 3 se presenta la frecuencia de aislamiento de *Salmonella spp.* en muestras de cáscaras según feria de procedencia.

**Tabla 3.** Frecuencia de aislamiento de *Salmonella spp.* en muestras de cáscara de huevos procedentes de dos ferias de Valdivia.

Feria	A		B		Total	
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
Muestras positivas	4	23,5	3	10,7	7	15,6
Muestras Negativas	13	76,5	25	89,3	38	84,4
Total	17	100	28	100	45	100

En 4 de las 17 muestras examinadas de la feria A (23,5%) y en 3 de 28 muestras de la feria B (10,7%), se pesquiso *Salmonella spp.*

Las cepas aisladas y confirmadas como *Salmonella spp.*, fueron clasificadas en el ISP, como cepas perteneciente al serotipo *Salmonella enteritidis*.

En relación a la información solicitada a los comerciantes, respecto a la forma en que eran manejadas las parvadas de aves de donde procedían los huevos muestreados, un alto porcentaje de ellos manifestó no tener información (45%). EL 22% declaró que las aves eran mantenidas a pastoreo, un 11%, que estaban reclusas en gallineros, y un 22% señaló que se aplicaba un sistema mixto, en el que se las dejaba pastorear de día y se las encerraba por la noche.

Un alto porcentaje de los vendedores de huevos (94%), comercializan además otros productos como, frutas, verduras, flores y queso.

## 6. DISCUSIÓN

En este estudio, se analizaron huevos de producción artesanal comercializados en dos ferias, que de acuerdo a la información recopilada provenían de productores que normalmente no utilizan programas de vacunación, de renovación de aves, ni medidas preventivas básicas, como mantener las mínimas condiciones de bioseguridad, tales como evitar el contacto con roedores, aves de vuelo libre u otros animales que pueden transmitir *Salmonella spp.* a las gallinas.

Las aves de donde procedían las muestras, en gran medida eran mantenidas a pastoreo (22%) o confinadas en gallineros solo por la noche (22%). Los vendedores que carecen de información en cuanto al manejo de las aves (45%), corresponde a aquellos comerciantes que compran la totalidad o parte de los huevos a terceros, sin conocer las condiciones en que estos son producidos.

Por manejarse en forma extensiva, las gallinas de campo tienen normalmente acceso al consumo de una amplia variedad de productos, que incluye insectos y otros invertebrados que podrían portar el patógeno. Por otra parte, muchas veces el agua que consumen las aves no es potable y el alimento que se les suministra o al menos parte de este, no ha sido sometido a procesos de peletización o ha estado expuesto a contaminación.

El que no se haya encontrado contaminación por *Salmonella* en ninguna de las muestras del interior de los huevos examinados, hace pensar en una baja proporción de gallinas infectadas con *Salmonella spp.* a nivel de su sistema reproductivo y en una alta tasa de infección horizontal. En esto, sin duda influye el que la recolección de los huevos sea manual, no conlleve un proceso posterior de desinfección y que estos sean transportados y comercializados, junto a otros productos agrícolas que no siempre cumplen con normas sanitarias orientadas al control de agentes bacterianos.

El porcentaje de muestras contaminadas encontradas en este estudio (15,6%) es muy superior a lo indicado por otros autores que trabajaron con muestras de planteles comerciales, diferencia que también fue reportada por Latorre y col (2003) en la VIII Región, analizando el contenido de 89 huevos provenientes de crianzas artesanales, donde se obtuvo un 3,37% de aislados de *Salmonella spp.* En la Región Metropolitana, Alexandre y col (2000) trabajando con 1000 muestras de 12 huevos cada una, de planteles de tipo comercial, determinaron una frecuencia de contaminación de 0,09% en la yema y 0% en cáscaras. En Cuba, Leyva y col (1996) en 330 muestras de 3 huevos cada una, encontraron un 0,6% de contaminación con *Salmonella enteritidis* en cáscaras de huevos y 0% en yemas. En el estado de Nueva York, Backer y col (1980) analizando 100 huevos en forma individual, estimaron una prevalencia de *Salmonella* de 0,21% en cáscaras. Bryan (1968) señala que varios estudios de distintos países

han mostrado que menos de un 1% de los huevos presentan contaminación en su cáscara. El que estos resultados difieran de los de la presente investigación puede explicarse por el hecho de que se trabajó con huevos provenientes de gallinas de campo, no confinadas como en sistemas de producción intensiva. Las aves en condiciones de campo se encuentran mucho más expuestas a ciertos factores de riesgo y el alto porcentaje de huevos procedentes de crianzas artesanales contaminados por diversos microorganismos, incluida *Salmonella spp.*, puede ser explicado, entre otros factores, por la presencia de fecas y humedad en los sitios de postura (Latorre y col 2003). Estas diferencias en las tasa de aislamiento de *Salmonella spp* entre ambos tipos de producciones (comercial y artesanal), respaldaría la efectividad del manejo sanitario utilizado en los sistemas de producción comercial.

Fica y col (2001) señalan que en otros países, la incorporación de cadenas de frío luego de la postura, se ha convertido en una estrategia clave para el control de *S. enteritidis*. El enfriamiento de los huevos retarda la replicación bacteriana y su penetración y, permite mantener una baja carga bacteriana hasta poco antes del consumo o cocción. La mantención de esta cadena en el domicilio del consumidor también es fundamental. La disminución de la efectividad de los mecanismos de defensa antibacterianos del huevo luego de varios días de almacenamiento, hace relevante que el consumo se realice antes de sobrepasar los plazos recomendados.

La normativa vigente en el país, permite la comercialización de huevos hasta un mes desde su fecha de producción, pero no incorpora la obligación de mantener una cadena de frío. Debido a que el Ministerio de Salud recomienda no conservar huevos por más de tres semanas a partir de la fecha de compra, la población podría estar consumiendo huevos de más de 50 días desde la oviposición y en muchos casos sin refrigeración durante todo este período. La importancia de la refrigeración como forma de control de *S. enteritidis* ha sido establecida en varios estudios que demuestran que el enfriamiento y el almacenamiento a bajas temperaturas retardan la penetración y multiplicación de *S. enteritidis* a los huevos. En contraste, el almacenamiento a temperatura ambiente permite el ingreso de *S. enteritidis* en tan sólo 3 días. La penetración de *S. enteritidis* está correlacionada también con el nivel de contaminación superficial y el tiempo transcurrido desde la oviposición (Alexandre y col 2000). En relación a esto, es necesario resaltar el hecho de que los huevos provenientes de producciones pequeñas no están rotulados con la fecha de producción o expiración de consumo.

Dado que la venta de huevos en ferias permite aprovechar las ventajas comparativas de la agricultura familiar, como es la obtención de productos naturales, lo cual responde a una tendencia de mercado que cada día valora más los productos de tipo orgánico (Skewes 2001), su comercialización se traduce en un ingreso interesante para familias de escasos recursos y la prohibición de su comercialización por razones sanitarias podría incentivar la venta ilegal.

Las medidas de control de este alimento a nivel de producción, procesamiento, transporte y almacenamiento en sitios de venta, han sido sumamente útiles en el control de *Salmonella spp.* en el comercio formal, pero por el momento es inaplicable a la realidad del comercio informal de huevos. Por esto, ya que por el momento la estandarización del manejo de las aves de

campo se ve como algo difícil de implementar dado su perfil atomizado, el control de las infecciones en humanos con *Salmonellas* provenientes de este tipo de huevos debería ir orientado hacia la difusión de información al consumidor con respecto a una correcta manipulación, almacenamiento y cocción, reduciendo de esta forma el riesgo de infección y contaminación cruzada hacia otros alimentos o utensilios en el hogar.

Es sumamente necesario, especialmente en el segmento de la población que consume huevos de campo, que se realicen campañas educativas orientadas a dar a conocer estas medidas preventivas, puesto que en este grupo, es básicamente el consumidor el que debe tomar las medidas para protegerse y eliminar el riesgo de infección de los huevos que consume.

Según Heitmann y col (1999) y Fica y col (2001), *S. enteritidis* sería el serotipo más comúnmente aislado de huevos en Chile, concordando con la tendencia observada a nivel mundial de reemplazo de *S. typhi* por *S. enteritidis* en los aislamientos realizados en productos de origen aviar asociados a casos de ETAs (Gast 2003). En este aspecto, los resultados del presente trabajo se enmarcan dentro de la tendencia observada en el país y a nivel mundial, correspondiendo las 7 cepas aisladas a *S. enteritidis*.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo se desprenden las siguientes conclusiones:

- Del total de muestras analizadas, se aislaron siete cepas de *Salmonella spp.*, todas ellas en la cáscara de los huevos, no encontrándose al microorganismo en ninguna de las yemas.
- La frecuencia de la contaminación con *Salmonella spp.* en la muestra de huevos comercializados en dos ferias de Valdivia es alta (15,6%), en comparación con las descritas por otros autores que realizaron trabajos similares.
- *S. enteritidis* es el serotipo más comúnmente aislado en huevos de campo comercializados en dos ferias de Valdivia.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Alexandre M, C Pozo, V González, MC Martínez, S Prat, A Fernández, A Fica, J Fernández, I Heitmann. 2000. Detección de *Salmonella enteritidis* en muestras de productos avícolas de consumo humano en la Región Metropolitana. *Rev Méd Chile*, 128, 1075-1083.
- Backer RC, JP Goff, JF Timoney. 1980. Prevalence of *Salmonellae* on Eggs from Poultry Farms in New York State. *Poult Sci*, 59, 289-292.
- Blood DC, VP Studdert. 1999. *Diccionario de Veterinaria*. McGraw-Hill. México.
- Borie C. 2002. Patógenos entéricos emergentes: *Salmonella* entérica. En: Jornadas en enfermedades transmisibles (re)emergentes. Universidad de Chile, Santiago.
- Bryan F. 1968. What the sanitarian should know about *Staphylococci* and *Salmonellae* in non-dairy products. *J. Milk Food Technol*, 31, 131-140.
- Chapman PA, P Rhodes, W Rylands. 1988. *Salmonella typhimurium* phage type 141 in Sheffield during 1984 and 1985: association with hen's eggs. *Epidemiol Infect*, 101, 75-82.
- Chile. Ministerio de Salud. División Salud Ambiental. 1998. Ord. N° 9B/ 1197 / 229.
- Chile. Ministerio de Salud. 1999. Reglamento sobre notificación de enfermedades transmisibles de declaración obligatoria. N° 712. D. Oficial de 17.04.00
- Chile<sup>a</sup>. INN (Instituto Nacional de normalización). 2002. Productos hidrobiológicos – Detección de *Salmonella* (NCh 2675. Of 2002).
- Chile<sup>b</sup>. SESMA (Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente). 2002. Consumo Seguro de Carnes \ Bacterias y enfermedades. Disponible en: <http://www.sesma.cl/sitio/pag/destacamos/indexjs3destac005-002.asp>. Consultado el: 22 de Febrero de 2005
- Chile<sup>c</sup>. INE (Instituto Nacional de Estadísticas) 2002. Censo 2002. Disponible en: [http://www.censo2002.cl/swf/mapa\\_interactivo/mapa\\_interactivo.htm](http://www.censo2002.cl/swf/mapa_interactivo/mapa_interactivo.htm) Consultado el: 12 de Febrero de 2005
- Chile. SESMA (Servicio de Salud Metropolitano del Ambiente). 2003. *Salmonella enterica Enteritidis / Salmonella enteritidis*. Disponible en:

<http://www.sesma.cl/sitio/pag/destacamos/indexjs3destac014-001.asp> Consultado el: 06 de Marzo de 2005

Chile. Ministerio de Salud. Instituto de Salud Pública. 2004. Servicios de laboratorios; Salmonella. Disponible en: [http://www.ispch.cl/lab\\_amb/serv\\_lab/salmonella.html#uno](http://www.ispch.cl/lab_amb/serv_lab/salmonella.html#uno) Consultado el: 06 de Noviembre de 2004

Ernst S. 1996. Muestreo en Epidemiología. En: Ernst S, N Tadich. *Epidemiología Aplicada*. Pp. 103-113. Univ. Austral de Chile - Univ. de Bristol. Valdivia.

FAO/OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación / Organización Mundial de la Salud). 2002. Evaluaciones de riesgos de *Salmonella* en huevos y pollos: Resumen interpretativo. Disponible en: [http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/mra1\\_sp.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/mra1_sp.pdf) Consultado el 15 de Abril de 2005

Fica A, A Fernández, S Prat, O Figueroa, R Gamboa, I Tsunekawa, I Heitmann. 1997. *Salmonella Enteritidis*, un patógeno emergente en Chile. *Rev Méd Chile*, 125, 544-551.

Fica A, M Alexandre, S Prat, A Fernández, J Fernández, I Heitmann. 2001. Cambios epidemiológicos de las salmonelosis en Chile. Desde *Salmonella typhi* a *Salmonella enteritidis*. *Rev Chil Infectol*, 18, 85-93.

Gast R. 2003. Salmonella Infections. En: Saif YM, HJ Barnes, JR Glisson, AM Fadly, LR McDougald, DE Swayne. *Diseases of Poultry*. 11ª ed. Pp. 567-613. Iowa State Press, Iowa.

González MJ. 2003. Frecuencia de aislamiento de *Salmonella* sp. en carcasas y menudencias de pollo comercializadas en la ciudad de Valdivia. *Seminario de Titulación*, Escuela de Tecnología Médica, Universidad Austral de Chile.

Heitmann I, JC Hormazábal, S Prat, A Fernández. 1999. Laboratorio de referencia de enterobacterias Instituto de Salud Pública: *Salmonella-Shigella*, 1998. En: El Vigía, boletín de vigilancia epidemiológica de Chile, 2, 3-5.

Henzler DJ, E Ebel, J Sanders, D Kradel, J Mason. 1994. *Salmonella enteritidis* in eggs from commercial chicken layerflocks implicated in human outbreaks. *Avian Dis*, 38, 37-43.

Latorre A, J López, P Gädicke. 2003. Detección de *Salmonella spp.* en crianzas artesanales de gallinas autóctonas chilenas. En: 10º Simposium internacional de epidemiología y economía veterinaria. Viña del Mar.



- Leyva V, E Valdés, E Cisneros, O Pérez. 1996. Determinación de Salmonella y enterobacterias totales en huevos frescos de gallina. *Rev Cubana Aliment Nutr*, 10, 83-86.
- Mead PS, L Slutsker, V Dietz, LF McCraig, JS Bresee, C Shapiro, PM Griffin, RV Tauxe. 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis*, 5, 607-625.
- Prado V, V Solari, IM Alvarez, C Arellano, R Vidal, M Carreño, N Mamani, D Fuentes, M O’Ryan, V Muñóz. 2002. Situación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos en Santiago de Chile: Período 1999-2000. *Rev Med Chile*, 130, 495-501.
- Prat S, A Fernández, A Fica, J Fernández, M Alexandre, I Heitmann. 2001. Tipificación fágica de aislados de *Salmonella* Enteritidis de muestras clínicas, alimentarias y avícolas en Chile. *Rev Panam Salud Pública*, 9, 7-12.
- Skewes O, A Ulloa, M Figueroa, P Rojas, G Gutierrez. 2001. Sistema de producción de aves en Semiconfinamiento. Producción Pecuaria en el Secano Interior. Boletín Universidad de Concepción-FIA-Indap. Chillán.
- WHO (World Health Organization). 2000. A WHO Global Salm-Surv Retrospective Study Examining *Salmonella* Serotypes in South America, 2000: Dominance of *Salmonella* Serotype Enteritidis. Disponible en: [http://www.who.int/salmsurv/links/en/GSS\\_ICEID\\_abstract\\_retrospective\\_salmonella\\_s\\_america.pdf](http://www.who.int/salmsurv/links/en/GSS_ICEID_abstract_retrospective_salmonella_s_america.pdf) Consultado el 06 de Noviembre de 2004

8. ANEXOS

Anexo 1. Ficha para recolección de datos

Feria : \_\_\_\_\_ Puesto Número: \_\_\_\_\_  
Nombre Comerciante: \_\_\_\_\_

Origen de huevos: \_\_\_\_\_

Manejo aves: \_\_\_\_\_

Forma de recolección : \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Otros Productos:      Si                      No

Fecha de recolección:      /      / 2003  
Número de huevos para comercializar en el día: \_\_\_\_\_  
Número de huevos muestreados: \_\_\_\_\_      Muestras: \_\_\_\_\_

Fecha de recolección:      /      / 2003  
Número de huevos para comercializar en el día: \_\_\_\_\_  
Número de huevos muestreados: \_\_\_\_\_      Muestras: \_\_\_\_\_

Fecha de recolección:      /      / 2003  
Número de huevos para comercializar en el día: \_\_\_\_\_  
Número de huevos muestreados: \_\_\_\_\_      Muestras: \_\_\_\_\_

Fecha de recolección:      /      / 2003  
Número de huevos para comercializar en el día: \_\_\_\_\_  
Número de huevos muestreados: \_\_\_\_\_      Muestras: \_\_\_\_\_

Notas: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_