

EVALUACIÓN DEL RIESGO

***Asociado a la presencia de los serovares zoonóticos de Salmonella en
huevo fresco producido en la CAE***

***Asociado a la infección alimentaria en la población por consumo de
huevo fresco***

**AUTOR: COMITÉ CIENTÍFICO DE SEGURIDAD AGROALIMENTARIA
DE LA CAE**

FECHA: MAYO 2008

1.- INTRODUCCIÓN

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Está formado por bacilos Gram-negativos, anaerobios facultativos, con flagelos peritricos (rodean al microorganismo) y no desarrolla cápsula ni espora. Son bacterias móviles, aunque existen excepciones como *S. Pullorum*, *S. Gallinarum* y algunas cepas de otros serotipos o serovares. Producen sulfuro de hidrógeno (H_2S), fermentan la glucosa pero no la lactosa, utilizan el citrato como única fuente de carbono y no producen ureasa (D'Aoust y Maurer, 2007).

Es un agente zoonótico de distribución universal reconocido como uno de los principales responsables de casos y brotes de infecciones alimentarias debido, entre otras razones, a las prácticas intensivas en producción animal (incluida la acuicultura) y a la globalización del comercio de alimentos (D'Aoust, 1994). Su principal reservorio son los huevos y las aves de corral, aunque no debe olvidarse que la carne de ungulados domésticos se ve también involucrada en la infección y que el papel de los productos de la acuicultura y de frutas, verduras y hortalizas no debería minimizarse (ICMSF, 2005).

Ocasiona enfermedades en los animales de abasto y puede estar presente de manera asintomática en el tracto intestinal de numerosas especies animales que actúan como reservorios y fuente de infección para el hombre. La infección se adquiere por la ingesta de alimentos o bebidas contaminadas. Aparte de las oportunidades de contaminación endógena de los huevos, generalmente, la presencia de *Salmonella* spp. en los alimentos de origen animal es debida a contaminación de origen fecal durante los procesos de obtención o a la contaminación cruzada en las fases posteriores, incluyendo la manipulación de alimentos listos para el consumo en hogares y restauración colectiva (ICMSF, 2005)

Se han descrito más de 2500 serotipos de *Salmonella* que muestran una gran adaptación para el crecimiento en el hombre y los animales. Los serotipos más importantes desde el punto de vista de la Salud Pública son Enteritidis y Typhimurium. En Europa, el serotipo Enteritidis se ha convertido en el predominante, principalmente asociado al consumo de huevos o carne de pollo contaminados. *S. Typhimurium* es el segundo serotipo más común después de *S. Enteritidis* en muchos países, siendo las principales fuentes de infección el ganado vacuno y porcino, aunque también se aísla de aves, y ganado ovino y caprino.

La salmonelosis es una infección bacteriana que generalmente afecta el tracto intestinal y ocasionalmente origina septicemia, infecciones localizadas y secuelas. Constituye una de las causas más comunes de gastroenteritis en el hombre y produce cientos de casos cada año (en España, entre los años 2000 y 2005, una media de cerca de 7500 casos declarados por año). La mayoría de los casos ocurren durante los meses del verano y en ocasiones pueden presentarse brotes epidémicos, especialmente en escuelas, guarderías, restaurantes y residencias de ancianos. El período de incubación es por lo general de 8 a 72 horas, a veces inferior (6 horas) y otras superior (hasta 5 días), y la infección se caracteriza por presentar síndromes febriles asociados a manifestaciones gastrointestinales o sistémicas que pueden llegar a ser severas.

2.- CARACTERIZACIÓN DE SALMONELLA

2.1.- Bacterias del género *Salmonella* - Etiología:

Aunque la clasificación taxonómica de *Salmonella* ha planteado problemas, el análisis cuidadoso de la homología del ADN revela que al género pertenecen tres especies: *Salmonella subterranea*, *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica* (Tindall et al, 2005; Euzéby, 2007). *Salmonella enterica* se subdivide, a su vez, en seis subespecies: *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV), e *indica* (VI) que corresponden a los antiguos subgéneros. *Salmonella enterica* subespecie *enterica* agrupa a la mayoría de las bacterias de este género que se asocian con animales homeotermos y con el hombre, mientras que las demás subespecies y también *S. bongori* y *S. subterranea* se encuentran en el medio ambiente y se asocian con animales de sangre fría o poiquilotermos.

Se distinguen más de 2.500 serotipos o serovariedades. La clasificación serológica (esquema de Kauffmann-White) se efectúa sobre la base de los antígenos O y H. Cada bacteria tiene un patrón específico para los epitopos de O y H en base al cual se establece un esquema de tipificación. Algunos serotipos sólo producen un único tipo de antígeno H, siendo, en consecuencia, monofásicos, mientras que otros pueden producir alternativamente dos tipos de antígenos H, por lo que se denominan bifásicos. Mediante el uso de reacciones antígeno-anticuerpo se determina la fórmula antigénica de una cepa y, a partir de dicha fórmula, se la clasifica en serovar o serotipo siguiendo el esquema propuesto originalmente por Kauffman y White que agrupa todas las serovariedades conocidas. Así, la nomenclatura correcta consiste en denominar una cepa con por ejemplo la fórmula antigénica 9,12:g,m:- como *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (a fin de enfatizar que los serotipos no corresponden a especies o subespecies distintas no se escriben con letra cursiva y sus nombres comienzan con mayúscula). Sin embargo, es aceptable desde el punto de vista científico emplear la nomenclatura simplificada, *Salmonella* Enteritidis. En un principio, para designar los serotipos se utilizaron nombres representativos, por ejemplo, del origen geográfico donde fue aislado por primera vez (*Salmonella montevideo*), o el del proceso infeccioso donde se aisló (*S. abortusovis*). Esta tradición ha quedado restringida a aquellas cepas pertenecientes a la subespecie *enterica*. Cuando se trata de aislamientos correspondientes a las demás subespecies, al igual que para *S. bongori*, se les designa por su fórmula antigénica. Además de los antígenos H y O algunas cepas, notablemente los bacilos tifoideos, tienen un antígeno somático adicional asociado a la virulencia (Vi). Dentro de los serotipos más comunes, se pueden diferenciar las cepas en diferentes fagotipos, dependiendo de las reacciones que tengan con bacteriófagos (partículas similares a los virus que atacan a bacterias selectivamente).

El género *Salmonella* constituye un gran grupo de bacilos Gram-negativos que forman una de las divisiones de la familia *Enterobacteriaceae*. La mayor parte de las cepas son móviles y producen ácido y gas a partir de la glucosa, el manitol y el sorbitol, excepto *Salmonella* Typhi y otras cepas raras que sólo producen ácido, son activas productoras de sulfuro de hidrógeno, y están estrechamente relacionadas entre sí por antígenos somáticos y flagelares. Estos microorganismos colonizan principalmente el intestino, si bien algunos pueden

hallarse en el torrente circulatorio y los órganos internos de los invertebrados. Puede aislarse de agua de bebida no tratada, aguas superficiales, aguas costeras y alimentos. La mayor parte de las salmonelas tienen un amplio rango de hospedadores.

2.2.- Mecanismos de patogenicidad de *Salmonella* spp.

Para el desarrollo de una infección bacteriana es necesaria la localización del agente en un ambiente adecuado para su establecimiento, multiplicación y expresión de sus factores de virulencia. El proceso supone una interacción hospedador – microorganismo que incluye las siguientes fases: adherencia, invasión, colonización y crecimiento, toxicidad, invasividad y daño tisular (Polotsky et al., 1994; Madigan et al., 2004)

Salmonella spp. emplea una mezcla de toxinas e invasividad y otros factores de virulencia para producir la enfermedad. Se comporta como un patógeno intracelular facultativo que, dependiendo del serotipo, el inóculo, los factores de virulencia expresados por la cepa, el hospedador involucrado, y el estado inmunológico del paciente puede ocasionar desde una infección gastrointestinal media a severa hasta una infección sistémica que puede comprometer la vida del paciente.

MECANISMOS DE ADHERENCIA

La supervivencia de un microorganismo en un nicho determinado depende de la habilidad para adherirse. La adherencia microbiana requiere de un receptor en la célula eucariota del hospedador y de una molécula de superficie del microorganismo que lo adhiera al receptor (adhesinas). Las adhesinas de la bacteria tienen una estructura que les permite reconocer receptores de las células del hospedador, con una estereoquímica específica. Esta unión determina los hospedadores y el organotropismo de las bacterias; además, las adhesinas tienen la capacidad de activar a los linfocitos B y neutrófilos, lo que da como resultado una variedad de respuestas biológicas que incluyen la proliferación celular y secreción de citocinas.

En las bacterias se puede encontrar una amplia variedad de adhesinas, las cuales se clasifican en dos grandes grupos: adhesinas fimbriales y adhesinas no fimbriales. En general, las adhesinas de bacterias Gram negativas son: fimbria, fibrilla, flagelo, lipopolisacárido (LPS) y cápsula.

Las fimbrias y los pelos (pili) presentan una estructura similar a los flagelos pero no confieren movilidad. Las fimbrias son considerablemente más cortas que los flagelos y mucho más numerosas. Los pelos o pili son estructuralmente similares a las fimbrias pero por lo general más largos, y solamente existen unos pocos sobre la superficie de una célula. Ambas estructuras contribuyen a la fijación de algunas bacterias patógenas a los tejidos (Madigan et al., 2004).

Salmonella expresa una amplia variedad de fimbrias de diferente especificidad de unión. La presencia de cápsula y flagelo en *Salmonella* depende del serovar en cuestión. Solo *S. Typhi*, *S. Paratyphi C* y *S. Dublin* presentan cápsula, y todos los miembros del género se consideran móviles a excepción de *S. Pullorum*, *S.*

Gallinarum y algunas cepas de otros serotipos. Los antígenos flagelares (H) son de los principales antígenos ante los cuales se dirige la respuesta inmune en el intento del hospedador de luchar contra la infección bacteriana. La mayoría de los serotipos de *Salmonella* son bifásicos, es decir, presentan dos tipos de antígenos H. En los serotipos bifásicos el antígeno flagelar puede aparecer de forma alternativa en fase 1, también llamada específica, o en fase 2, es lo que se denomina variación de fase. La inversión reversible del promotor de operón *fljBA* determina la expresión de uno u otro antígeno. Como resultado, *Salmonella* puede cambiar sus flagelos en respuesta al ataque del sistema inmune y así escapar de la acción específica de los anticuerpos generados por el hospedador frente a la otra fase.

Después de la entrada al hospedador, un patógeno bacteriano puede adherirse directamente a la superficie de la célula hospedadora o a la matriz extracelular. Se han descrito diferentes operones en cada una de las subespecies de *S. enterica*, cada uno de ellos participa en la adhesión a diferentes tipos celulares. Los genes de cada operón se expresan cuando en el hospedador las condiciones físico-químicas son las adecuadas, como la temperatura, pH, osmolaridad y disponibilidad de nutrientes.

La interacción de un patógeno con una célula hospedadora usualmente provoca la activación de caminos de señalización de la célula hospedadora, ya sea de manera directa por componentes bacterianos o por estimulación de factores activadores del hospedador, como las citocinas inflamatorias. Tales activaciones pueden alterar la superficie de la célula hospedadora, proveyendo así al patógeno con receptores de adhesinas alternos.

MECANISMOS DE INVASIÓN

Después de la ingesta de agua o alimentos contaminados, *Salmonella* inicia su ciclo de infección invadiendo al hospedador a través de tejido linfoide, incluyendo las placas de Peyer y tonsilas cecales en las aves. Se adhiere apicalmente a las células epiteliales del íleon y a las células M que debido a la ausencia del borde de cepillo así como de glicocalix, representan una puerta de entrada ideal para las enterobacterias.

Muchos microorganismos patógenos son capaces de entrar y sobrevivir dentro de las células eucarióticas. *Salmonella* se dirige a células hospedadoras que no son normalmente fagocíticas como la superficie de la capa mucosa de células epiteliales. Presumiblemente, esta técnica de invasión asegura un nicho celular protegido para que el microbio se multiplique o persista.

Salmonella invade las células del hospedador por un mecanismo conocido como disparo. La bacteria envía señales a las células epiteliales que inducen rearrreglos del citoesqueleto dando lugar a la formación de ondulamientos en su superficie como respuesta al contacto. *Salmonella* puede invadir varias líneas celulares y se considera que puede estimular más de un camino de transducción de señales para promover su entrada a las células del hospedador.

Las proteínas efectoras pueden ser consideradas como toxinas debido a que de alguna manera afectan a la célula eucariótica, sin embargo a diferencia de

éstas, carecen de receptores de unión por lo que son incapaces de tener acceso directo a su sitio de acción si no es por la contribución del sistema de secreción. Todo parece indicar que la penetración de *Salmonella* en la mucosa intestinal es esencial para causar infección. El hecho de bloquear la penetración a la mucosa intestinal al mutar genes involucrados en invasión, permite obtener cepas atenuadas que pudieran ser utilizados como posibles inmunógenos.

Salmonella produce efectos citotóxicos que resultan en la destrucción de las células M y la invasión de enterocitos adyacentes tanto por la cara apical como por la basolateral, induce apoptosis de macrófagos activados mediante la proteína efectora SipB (*Salmonella* invasión protein) y fagocitosis inducida en macrófagos no activados, para poder ser transportada a hígado y bazo.

S. Typhimurium puede llegar a hígado y a bazo por una ruta alternativa, que no requiere colonización intestinal o invasión de células epiteliales intestinales, la bacteria es llevada directamente del lumen intestinal a circulación, bazo e hígado por fagocitos que expresan CD18.

ENTERITIS Y DIARREA

Los mecanismos de patogenicidad por los que *Salmonella* induce diarrea y septicemia no han sido descritos detalladamente, pero parece ser un fenómeno complejo que involucra diversos factores de virulencia. Produce, al menos, tres toxinas: enterotoxina, endotoxina (LPS) y citotoxina. La enterotoxigenicidad, que es una característica presente en muchos serovares de esta bacteria, incluyendo *S. Typhi*, se expresa pocas horas después de que la bacteria entre en contacto con la célula hospedadora.

Salmonella induce la migración de neutrófilos y macrófagos así como la liberación de diversas citocinas proinflamatorias que reclutan células fagocíticas y están involucradas en el proceso diarreico. También se habla de un quimioatrayente, aún no caracterizado, conocido como PEEC. La producción de citocinas proinflamatorias inducida por *Salmonella* es debida a la activación de factores de transcripción NF-kB AP-1, como consecuencia de la estimulación de las MAP cinasas por parte de la proteína efectora SopE. El incremento de la impermeabilidad vascular que acompaña la inflamación en combinación con la pérdida de la integridad epitelial de la mucosa intestinal provoca la diarrea, al verse incrementada la salida de líquidos y electrolitos al lumen intestinal.

ISLAS DE PATOGENICIDAD

Las islas de patogenicidad de *Salmonella* (SPI) se constituyen por un grupo de genes que codifican factores específicos de virulencia, su porcentaje de G+C difiere del promedio del genoma bacteriano, se presentan repeticiones directas en sus extremos, portan genes que codifican factores de movilidad como integrasas, transposasas o secuencias de inserción y se encuentran frecuentemente insertadas en loci de ARNt. Esto sugiere que han sido adquiridas a partir de otras especies por transferencia horizontal.

Salmonella presenta múltiples genes involucrados en la invasión, genes que codifican el sistema de secreción, genes que codifican proteínas involucradas en la translocación de las moléculas efectoras dentro del citoplasma de la célula hospedador y genes que codifican las proteínas efectoras y sus chaperones.

Actualmente se sabe que *Salmonella* cuenta con cinco islas de patogenicidad: SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-4 y SPI-5.

OTROS MECANISMOS DE PATOGENICIDAD

Otros posibles mecanismos de patogenicidad descritos son: plásmidos, sideróforos, el antígeno Vi, y las porinas.

2.3.- Reservorios y alimentos implicados

Los reservorios de *Salmonella* más frecuentes incluyen animales domésticos, de compañía y silvestres, entre los que se encuentran el ganado porcino y vacuno, las aves silvestres y de corral, roedores, tortugas, perros y gatos. En el medio ambiente (heces), algunos alimentos (leche en polvo) y piensos, esta bacteria sobrevive durante mucho tiempo debido a su gran resistencia a la baja a_w (deshidratación). Asimismo, puede permanecer viable en productos ricos en proteína y grasas, por ejemplo en chocolate.

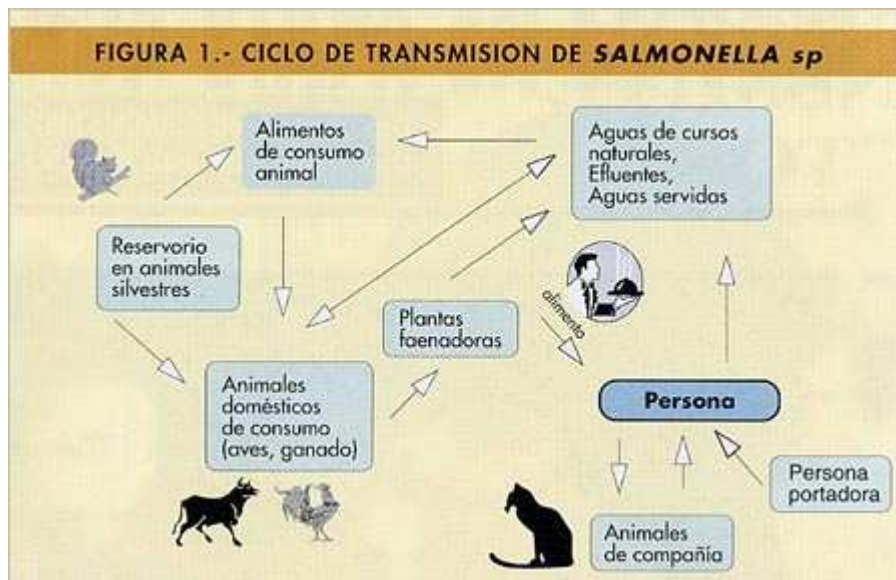
La salmonelosis es una enfermedad de distribución mundial. La principal vía de infección para el hombre es a través del consumo de alimentos de origen animal contaminados. Aunque en cortos periodos, a veces un año o dos, se pueden observar cambios en la frecuencia de presentación de las diversas serovariedades, en Europa, el serotipo Enteritidis se ha convertido en el predominante, principalmente asociado al consumo de huevos o carne de pollo contaminados. *S. Typhimurium* es el segundo serotipo más común después de *S. Enteritidis* en muchos países y su resistencia a un amplio rango de agentes antimicrobianos está aumentando. Las principales fuentes de infección por *S. Typhimurium* son el ganado vacuno y porcino, pero también se aísla de aves, y ganado ovino y caprino. Con frecuencia, los animales portadores son asintomáticos. En una región o país, se aísla de los animales y del hombre sólo una cantidad limitada de serovariedades y el predominio de una u otra puede variar con el tiempo y la distribución geográfica.

Durante el proceso y después de desaparecer los síntomas, los individuos afectados pueden eliminar *Salmonella* en las heces. El periodo de excreción puede prolongarse varios meses, aunque como media no dura más de 5 semanas. Muchos casos de portadores asintomáticos pasan inadvertidos pudiendo actuar como fuente de infección. El estado de portador crónico es más común en animales que en seres humanos.

2.4.- Transmisión

Salmonella accede a los huevos por dos vías: transovárica (transmisión vertical) o a partir de la cáscara contaminada con material fecal (transmisión horizontal). En el primer caso, la bacteria procede de los ovarios o del oviducto

infectados antes de la formación de la cáscara. La transmisión horizontal incluye también la contaminación por vectores ambientales, como animales silvestres, roedores, o los propios operarios de la explotación. La transmisión vertical se considera la principal vía de contaminación de *Salmonella* y resulta la más difícil de combatir, mientras que la transmisión horizontal puede reducirse eficazmente mediante medidas de bioseguridad, limpieza y desinfección del entorno.



Puesto que se trata de un microorganismo sensible a los tratamientos térmicos, la infección por *Salmonella* se asocia con el consumo de alimentos crudos o poco cocinados y a contaminaciones cruzadas debidas a la inadecuada manipulación de los alimentos. El huevo contaminado, crudo o mal cocinado, y sus subproductos, son la principal fuente de infección.

Las serovariedades no tifoideas de *Salmonella* como *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* y otras que producen enfermedad clínica y/o estado portador en los seres humanos y en un número amplio de especies animales, son las causantes de las llamadas infecciones paratifoideas de las aves, que tienen dos formas de presentación: clínica y subclínica. En la última hay un fenómeno de comensalismo entre los diferentes tipos de *Salmonella* sin que se manifieste daño alguno aun en pollitos de una semana de edad, sin embargo estas aves pueden contaminar el producto final como la carne de pollo y huevos. En las granjas la paratifoidea se difunde fácilmente por cohabitación o la incorporación de un lote de aves enfermas; de igual forma los operarios contaminados o sus familias pueden ser un origen frecuente de contaminación de aves y huevos cuando no existen las condiciones de bioseguridad requeridas.

La presencia de *S. Enteritidis* en la cloaca facilita la contaminación del huevo durante la puesta, cuando la cáscara es aún permeable, y el aislamiento de este agente en muestras de ovario subraya la relevancia que tiene la transmisión vertical (transovárica) al huevo en la epidemiología de estas infecciones. En cuanto a las vías de transmisión de *Salmonella* en aves, se han hecho numerosos estudios, Miyamoto et al (1997) demostraron cómo la inoculación por vía intraovárica, de *S. Enteritidis* dio una alta incidencia de huevos contaminados en

comparación con la ruta cloacal o intravenosa. Asimismo, este estudio demostró que *S. Enteritidis* se adhiere a los huevos a partir del ovario contaminado y muy probablemente de allí podría pasar a través de la cáscara y sus membranas al interior del huevo.

2.5.- Factores que afectan a la supervivencia y multiplicación

Crecimiento

- ✓ **Temperatura:** No se multiplican a temperaturas inferiores a 7°C, reduciéndose significativamente el crecimiento por debajo de los 15°C. La temperatura máxima parece ser 49,5°C y la óptima está entre 35 – 37°C. Existen datos de crecimiento a temperaturas por debajo de 7°C, pero parece ser específico de algún serotipo y no está aceptado universalmente, existiendo dudas acerca de algunos estudios realizados al respecto.
- ✓ **pH:** Se considera que el valor mínimo es de 4,5 aunque algunas cepas crecen a pH 3,9. El pH óptimo está entre 6,5 – 7.5 y el máximo en 9.5. El pH mínimo depende de otros factores como la temperatura, el tipo de ácido utilizado, la presencia de nitritos y otros conservantes, etc. El acidulante utilizado es especialmente importante, siendo los más eficaces el ácido acético y el ácido propiónico. Hay que destacar también la capacidad de adaptación de algunas cepas a los medios ácidos.
- ✓ **Atmósferas:** Puede crecer tanto en ambientes aerobios como anaerobios. El crecimiento en presencia de nitrógeno es escasamente inferior al observado en presencia de aire. Crece a 8-11°C en presencia de un 20 – 50% de CO₂.
- ✓ **Actividad de agua:** Los alimentos con una $a_w < 0,93$ no permiten el crecimiento de *Salmonella* aunque puede sobrevivir largos periodos de tiempo en condiciones de baja a_w . Son inhibidas por concentraciones de 3-4% de NaCl pero la tolerancia a la sal aumenta en el rango 10-30 °C.

Supervivencia

Salmonella puede permanecer viable en medios hostiles como son muchos alimentos, superficies y el medio ambiente. Se ha observado una correlación entre su capacidad para sobrevivir al calor, ciertos ácidos y el peróxido de hidrógeno y su habilidad para sobrevivir en las superficies.

- ✓ **Temperatura:** *Salmonella* permanece viva largos periodos de tiempo en alimentos refrigerados y congelados. Por ejemplo, se ha comprobado su viabilidad durante más de 10 semanas en mantequilla a temperaturas de entre – 23°C y + 25°C. Puede sobrevivir 28 días en vegetales refrigerados. Como todas las bacterias Gram negativas es sensible al calor aunque su termorresistencia aumenta al disminuir la a_w . También se ha comprobado que ésta es mayor cuando se expone a tratamientos térmicos sub-letales (ICMSF, 1996).

- ✓ **Actividad del agua:** La supervivencia en medios con baja a_w es una característica de estos microorganismos. Por ejemplo, pueden sobrevivir en chocolate (a_w 0.3 – 0.5) durante meses. En estas condiciones, puede aumentar considerablemente su resistencia al calor.

2.2.- CARACTERIZACIÓN DEL PELIGRO

2.2.1.- Manifestaciones clínicas de la enfermedad - Fisiopatología

Salmonelosis no tifoidea

Salmonella afecta al íleon y en menor medida, al colon. Causa leves ulceraciones en la mucosa y se abre camino a través de la superficie epitelial hacia la lámina propia, desde donde puede pasar a los vasos linfáticos y al torrente circulatorio. Estudios de base molecular acerca de la virulencia han demostrado que se requieren una serie de factores para que una cepa de *Salmonella* sea seriamente patógena. Por ejemplo, se ha demostrado la presencia de plásmidos que codifican el factor necesario para la diseminación bacteriana desde las placas de Peyer. Otros factores de virulencia importantes son: la capacidad de la cepa para sobrevivir dentro de los macrófagos, el LPS y el antígeno Vi.

La capacidad infectiva se relaciona con el serotipo y su DIM (dosis infectiva mínima). En general, se observa una tasa de infección de aproximadamente el 50% con 10^7 células, que aumenta a un 90% con 10^9 células. La DIM varía mucho con los diferentes serotipos. Otros factores como la hipoclorhidria aumentan la probabilidad de infección, ya que el medio ácido del estómago inactiva a los microorganismos.

Los serotipos de *Salmonella* muestran variación en su capacidad invasora y de producir la enfermedad. Por ejemplo, *S. Anatum* produce infección intestinal asintomática, mientras que los serovares Dublin y Choleraesuis tienden a producir septicemia. Como ya se ha señalado, la invasión de la corriente sanguínea puede ocurrir como una complicación de la gastroenteritis.

Cuadro Clínico

El cuadro clínico consiste en: cefalea, náuseas, vómitos, diarrea (a veces sanguinolenta y con mucus), dolor abdominal, escalofríos y fiebre. El dolor abdominal es severo y la deshidratación no es infrecuente en niños y ancianos. La diarrea dura entre dos y cinco días y el proceso suele autolimitarse aunque puede derivar en septicemia y secuelas.

El período de incubación ya se ha señalado anteriormente. Se relaciona con la cantidad de células ingeridas, con la virulencia de la cepa, con la edad del individuo y su estado inmunológico, con patologías subyacentes, con el contenido del estómago y con el tipo de alimento.

Las manifestaciones clínicas y la duración de la enfermedad varían marcadamente de un paciente a otro. Las formas leves no suelen durar más de una semana pero pueden prolongarse más tiempo.

En los casos menos graves, el tratamiento, si es necesario, debe limitarse a mantener el equilibrio de electrolitos ya que el empleo de antibióticos está contraindicado porque aumenta el estado portador y la eliminación intermitente de la bacteria. Además, se favorece la aparición de cepas resistentes a los antibióticos.

Salmonella puede inducir procesos crónicos como artritis, el síndrome de Reiter y espondilitis anquilosante. Para que estas enfermedades se desarrollen es preciso que la cepa posea determinados factores de virulencia y que el hospedador presente cierta predisposición. Así, las artropatías se producen en individuos que poseen los antígenos de la histocompatibilidad HLA de clase I, concretamente el I HLA-B27. Otros antígenos que muestran reacciones cruzadas con el antisuero frente al B27 también se han asociado con la artritis reactiva.

Un estudio llevado a cabo en los Estados Unidos de América (Hope et al., 2002) ha estimado que, en ese país, se producen al año 661.633 casos de salmonelosis y artritis reactiva. De ellos, el 94% se recupera sin atención médica, el 5% sí la requiere, el 0,5 % precisa hospitalización y el 0,05% muere.

Resumiendo, existen cinco grupos de procesos relacionados con *Salmonella* spp.:

1. Gastroenteritis
2. Bacteriemia, observada en el 10% de los casos.
3. Secuelas que se ven en el 5% de los casos.
4. Fiebre tifoidea (*S. Typhi*) y fiebre entérica o paratífus (*S. Paratyphi*)
5. Un estado de portador en personas asintomáticas (el microorganismo suele colonizar la vesícula biliar).

Diagnóstico

El diagnóstico convencional se basa en último término en el aislamiento del microorganismo mediante cultivo a partir de muestras de heces y/o de los alimentos implicados. Puesto que generalmente *Salmonella* está presente en un menor número que el resto de la flora acompañante que es muy diversa, es necesario hacer un pre-enriquecimiento en medios líquidos ricos en nutrientes como: agua de peptona, caldo lactosado, caldo nutritivo, etc., con el objeto de recuperar las células lesionadas de estas bacterias. Un enriquecimiento selectivo posterior (caldo tetratoato con verde brillante, caldo selenito-cistina, caldo Rappaport-Vassiliadis, etc.) consigue inhibir el crecimiento de la flora acompañante y aumenta la concentración de *Salmonella*. Su posterior aislamiento en un medio sólido selectivo (agar Hektoen entérico, agar XLD (xilosa-lisina-desoxicolato), agar Bismuto Sulfito, agar de Mac Conkey, agar S-S, agar verde brillante, etc.) inhibe el crecimiento de otras bacterias y da información sobre algunas de las principales características bioquímicas. Finalmente es necesario hacer las pruebas bioquímicas para identificar el género *Salmonella* utilizando TSI, LIA y pruebas bioquímicas por procedimientos convencionales o sistemas rápidos. En general *Salmonella* es negativa a las

pruebas de ureasa, indol, lactosa y sacarosa, y positiva a las pruebas de descarboxilación de lisina y ornitina, así como generalmente producen H₂S, aunque existen variantes atípicas con reacciones positivas a lactosa o de no descarboxilación de lisina. El proceso suele terminar con una prueba de aglutinación rápida en portaobjetos en la que se enfrentan las colonias sospechosas con una gota de suero anti-O/V_i. La aglutinación, cuando ocurre, se puede observar en pocos minutos. Esta prueba es particularmente útil para la identificación preliminar rápida de los cultivos. Como ya se ha mencionado, los serotipos importantes se pueden diferenciar por sus antígenos como el antígeno O (lipopolisacárido), el H (flagelar).

Existen numerosos métodos alternativos más rápidos y sensibles muy útiles como técnicas de cribado rápido que, simplificando, se pueden dividir en tres grandes grupos: separación inmunomagnética, inmunoensayos y técnicas moleculares (PCR, e hibridación del ADN, etc.). Las técnicas de PCR gozan de gran aceptación y la mayoría de ellas están diseñadas para detectar el gen *invA* que es característico de este género.

En caso de infección sistémica los bacilos se suelen aislar en los cultivos de sangre sólo en las dos primeras semanas de enfermedad, mientras que los cultivos de heces son en general positivos durante la semana tercera a quinta.

2.2.2.- Poblaciones de riesgo

Afecta a todos los grupos de edad, con mayor incidencia en mayores de 60 años y menores de 5, que son los grupos más vulnerables. Asimismo, son especialmente sensibles los enfermos de cáncer, diabéticos, portadores del VIH, pacientes tratados con corticosteroides y otros grupos de riesgo.

2.2.3.- Dosis infectiva y relación dosis-respuesta

Además de los factores ya mencionados (serotipo y tamaño del inóculo) la capacidad infecciosa depende del grado de resistencia del hospedador (edad, estado inmunitario), la matriz en que la bacteria es ingerida y el estado fisiológico de la bacteria (Humphrey, 2004). La exposición previa de la bacteria a condiciones de acidez subletales por ejemplo en la mayonesa, podría facilitar su resistencia a la acidez gástrica en comparación con células que hayan sido pre-expuestas a elevadas temperaturas. Como consecuencia de los múltiples factores que influyen su infectividad, existe una gran variabilidad en las estimaciones de dosis infectivas aunque comúnmente se acepta que oscila entre 10⁶ y 10⁸ unidades formadoras de colonias (Humphrey, 2004). A pesar de los valores comúnmente aceptados, los resultados de la investigación de diversos brotes asociados a diferentes alimentos demuestran que en ocasiones las dosis infectivas pueden ser mucho menores (Tabla 1).

En el caso de *de Salmonella* Enteritidis durante la investigación de un brote a partir de helado contaminado en EEUU la dosis infectiva se estimó como no superior a 28 células (Vought y Tatini, 1994). El origen de este brote se asoció con residuos en un camión usado para transporte de huevos antes de ser usado para el transporte de helado pasteurizado (Oemichen, 1995). En Alemania, en un

brote asociado con pimienta y patatas fritas picantes contaminados con múltiples serotipos la dosis infectiva se estimó entre 4 y 45 organismos (Lemacher et al., 1995).

También en relación con *Salmonella* Enteritidis durante la investigación de un brote a partir de helado contaminado en EEUU la dosis infectiva se estimó como no superior a 28 células (Vought y Tatini, 1994). El origen de este brote se asoció con residuos en un camión usado para transporte de huevos antes de ser usado para el transporte de helado pasteurizado (Oemichen, 1995). En Alemania, en un brote asociado con pimienta y patatas fritas picantes contaminados con múltiples serotipos la dosis infectiva se estimó entre 4 y 45 organismos (Lemacher et al., 1995).

Tabla 1: Dosis infectivas estimadas de *Salmonella* spp. (Humphrey, 1994).

Table 1 Estimates of the infective dose of <i>Salmonella</i> spp.		
Foodstuff	Serovar	Infectious dose (CFU)
Cheese	Typhimurium	1–10
Chocolate	Eastbourne	<100
	Napoli	10–100
	Typhimurium	10
Maize snack	Agona	2–45
Paprika-flavoured potato chips	Saint Paul, Javiana, Rubislaw	<45
Peanut butter	Mbandaka	10–100

Derived from epidemiological evidence of outbreaks. CFU, colony-forming units. Data taken from REF. 43.

En cuanto a *Salmonella* Typhimurium, en un brote por consumo de queso contaminado, la dosis infectiva se estimó como no superior a 10 organismos. Reflejando la variabilidad en dosis infectivas y la posibilidad de que esta sea muy baja en ciertas ocasiones, la *Food and Drug Administration* considera que la dosis infectiva es tan pequeña como entre 15 y 20 células; dependiendo de la edad y estado de salud del hospedador y diferencias entre serotipos (FDA, 2004)

Relación dosis-respuesta

La evaluación del riesgo asociado a *Salmonella* en huevos y pollos llevada a cabo por FAO y OMS (WHO, 2002) revisa de forma detallada las principales conclusiones sobre relación dosis-respuesta de estudios disponibles hasta la fecha de la evaluación.

El documento describe tres abordajes diferentes del problema:

- i) modelos basados en los datos del ensayo de administración de *Salmonella* a humanos descrito por Fazil (1996)
- ii) modelos basados en el uso de *Shigella dysenteriae* como patógeno alternativo
- iii) modelos usados por la Agencia de Salud Pública canadiense basados en datos de brotes por *Salmonella enteritidis* y análisis bayesiano de los datos (WHO, 2002).

En el **Anexo II** se muestran las gráficas dosis-respuesta resultado de los diferentes escenarios planteados (WHO, 2002).

Los resultados del primer grupo de modelos sugieren que dosis de entre 2.36 y 2.54×10^4 resultarían en infección del 50% de la población (**Anexo II – Figura 1**).

En cuanto a los estudios basados en *Shigella dysenteriae*, este microorganismo se empleó como alternativa para el estudio de las relaciones dosis-respuesta para serotipos patógenos a dosis bajas (de 10^3 microorganismos). Los resultados del modelo basado en el ensayo alimentario con *Shigella* se compararon con información de brotes por *Salmonella* (**Anexo II, Figura 2**). Como para los estudios del grupo anterior, los investigadores proponen los parámetros de una distribución beta-Poisson que reflejaría la relación dosis respuesta.

Por último, los estudios realizados por *Health Canada* difieren metodológicamente de los anteriores en el tipo de abordaje estadístico, puesto que se basa en una estimación bayesiana de la relación dosis-respuesta. Este abordaje puede presentar ventajas a la hora de combinar información procedente de ensayos alimentarios con la obtenida durante la investigación de brotes, que como se comenta anteriormente muestra ciertas discrepancias. En este modelo la dosis ingerida es definida probabilísticamente para reflejar la incertidumbre existente al respecto (**Anexo II – Figuras 3, 4 y 5**).

Los resultados de estos tres abordajes muestran considerables desviaciones en las estimaciones de la relación dosis-respuesta, la selección de una curva u otra deberá tener en cuenta que riesgo específico está siendo evaluado y aspectos sobre la plausibilidad biológica del modelo en cuestión.

Por último, en la Tabla 2 se muestra la probabilidad de la enfermedad estimada por los diferentes autores (WHO, 2002).

Tabla 2: Probabilidad de la enfermedad estimada (%) por los diferentes autores (WHO, 2002)

Table 3.3: Predicted probability of illness (%) estimated by the FAO-WHO, USDA-FSIS and D2TAP models.

Dose response model	Mean Log Dose (Mean Dose)			
	0 (1 cell)	1 (10 cells)	2 (100 cells)	3 (1000 cells)
FAO-WHO	0.25%	2.30%	13.3%	32.9%
USDA-FSIS (normal population)	1.1%	9.1%	36.4%	64.5%
USDA-FSIS (susceptible population)	9.1%	36.3%	64.4%	81.1%
D2TAP	0.25%	2.3%	13.2%	33.1%

2.2.4.- Datos epidemiológicos en la CAE

En el caso de los aislamientos, entre los años 2001 y 2003 se triplicaron, volviendo a disminuir a partir del año 2003 hasta más de la mitad en el año 2006 (Figura 2). En la Figura 3 se muestra la distribución de los aislamientos en los tres territorios de la CAE.

Figura 2: Aislamientos de *Salmonella* spp en la CAE

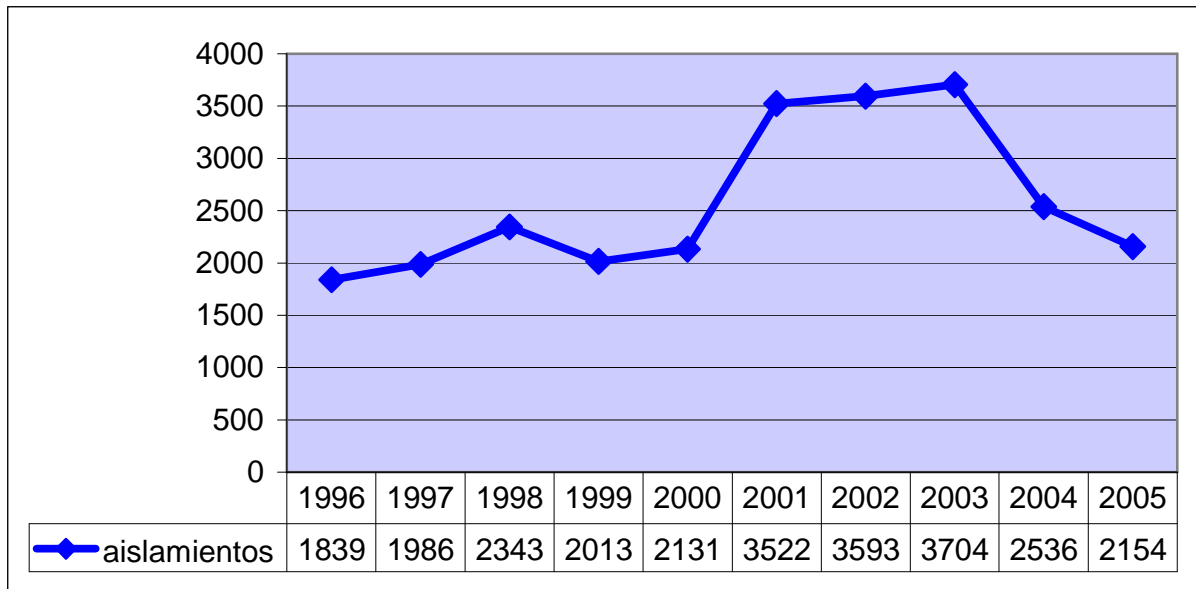
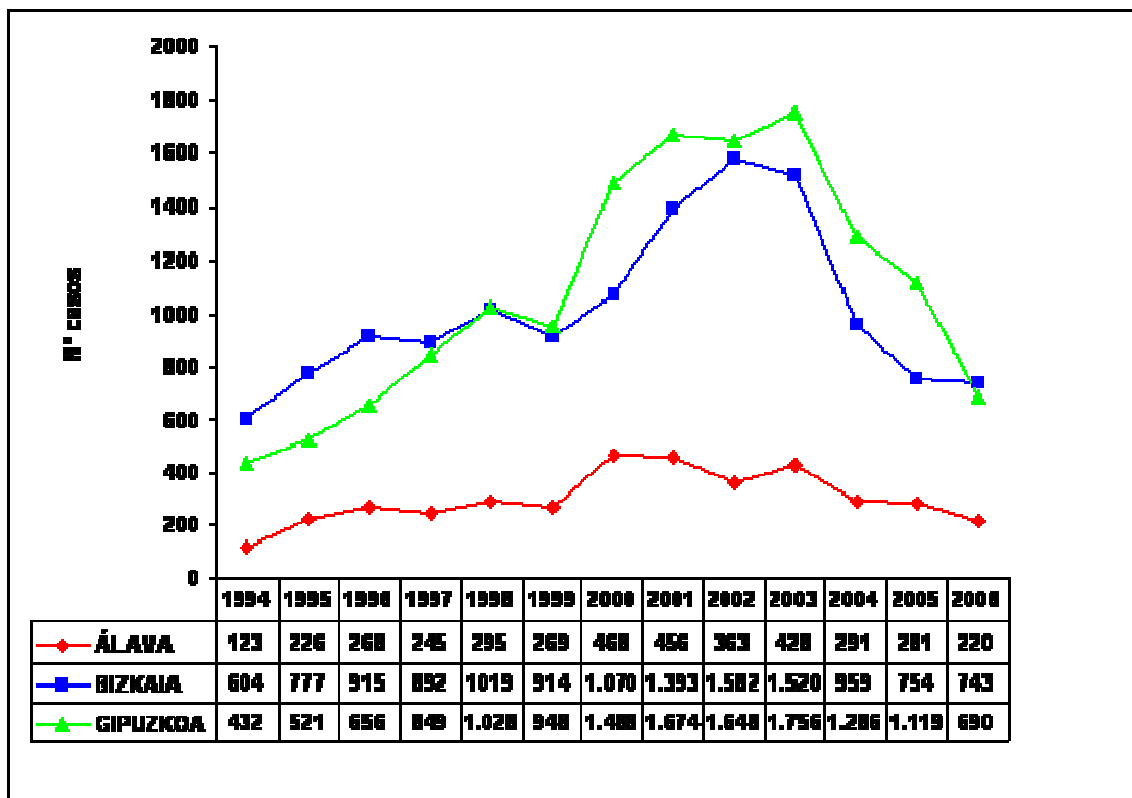
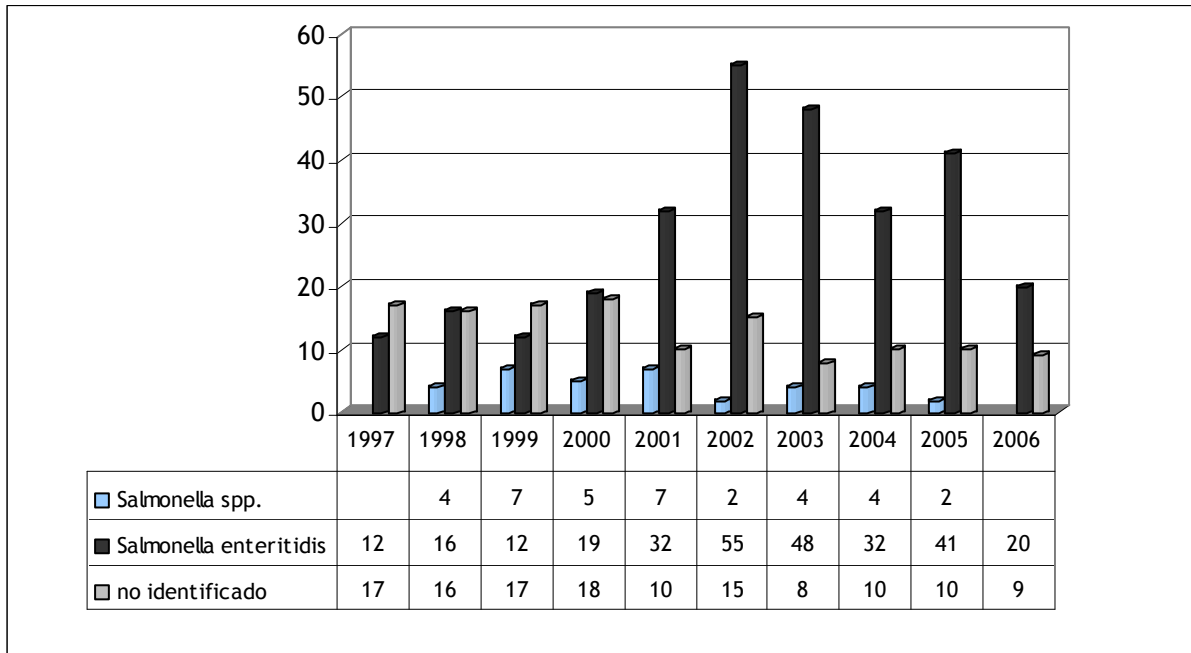


Figura 3: Distribución de aislamientos de *Salmonella* spp en los tres territorios de la CAE



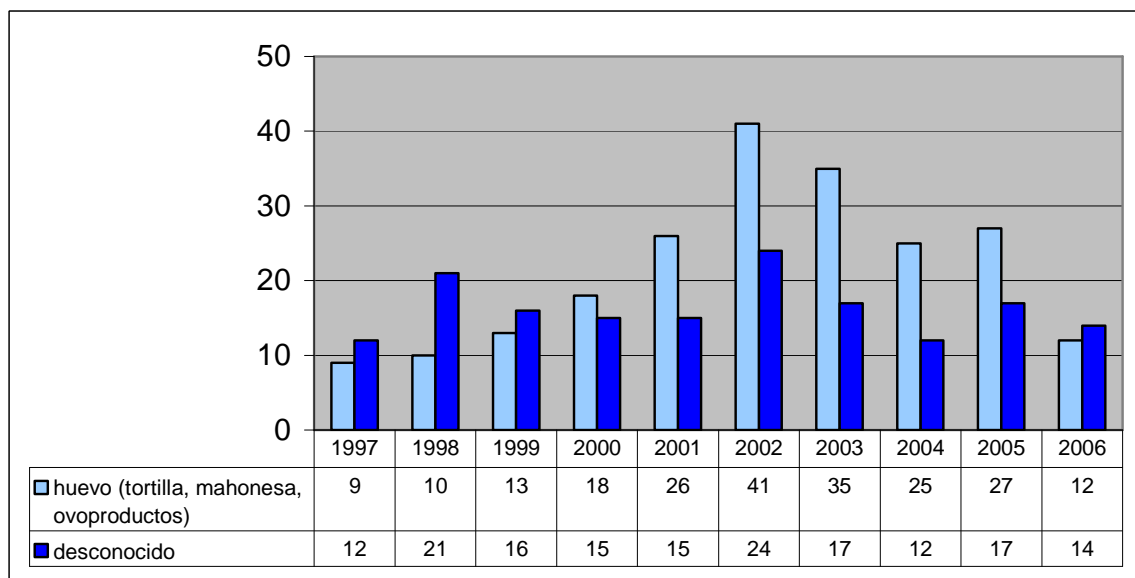
En cuanto a la evolución del número de brotes asociados a serotipos de *Salmonella* (**Figura 4**) se observa que todos los años el serotipo más frecuente es *Salmonella* Enteritidis, siendo el agente causal en más de la mitad de las ocasiones.

Figura 4: Evolución del número de brotes asociados a serotipos de *Salmonella*



Por otro lado, teniendo en cuenta los alimentos implicados en los brotes (**Figura 5**), se observa que entre un 25 y un 35% de los casos no se ha podido identificar el alimento implicado, mientras que el huevo (tortilla, mahonesa u ovoproductos) ha sido identificado como el alimento causante entre un 31 y un 53% de los casos.

Figura 5: Alimentos implicados en brotes causados por *Salmonella*



3. MEDIOS DISPONIBLES PARA LA REDUCCIÓN DEL RIESGO ASOCIADO A ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR *Salmonella* spp.

PREVENCIÓN DE LA INTRODUCCIÓN DE LA INFECCIÓN.

3.1. Reducción del riesgo por *Salmonella* en gallinas ponedoras

La presencia de *Salmonella* spp. en una granja de gallinas ponedoras viene determinada por una serie de factores de riesgo que se deben controlar con el fin de minimizar al máximo la exposición de las aves a dicha bacteria. Los principales factores de riesgo se muestran en la siguiente figura:

Figura 13: Principales factores de riesgo de presencia de *Salmonella* spp en una granja



Debido al carácter multifactorial del riesgo, es imprescindible abordar uno por uno todos los puntos con el fin de reducir el riesgo total. Para ello resulta necesario seguir un Código de Buenas Prácticas de Higiene para la prevención y control de salmonelosis zoonóticas dentro de las explotaciones de producción de huevos.

GRANJAS

Localización y Registro

Todas las granjas e instalaciones dedicadas a la producción de huevos, previo a su liberación a los centros de clasificación, deberán estar convenientemente registradas, debiendo cumplir los requisitos establecidos en la correspondiente normativa sobre ordenación de explotaciones ganaderas.

En el caso de nuevas construcciones deberá evitarse, además, la proximidad de otras granjas (otras aves, porcino) e instalaciones que puedan actuar como fuente potencial de contaminación por *Salmonella*, tales como mataderos,

plantas de tratamiento de subproductos, centros de tratamiento de purines o aguas residuales, etc.

Cuando se trate de granjas ya ubicadas en las proximidades de instalaciones potencialmente contaminantes deberá extremarse la protección frente a la introducción de la enfermedad, en particular, el control de animales silvestres y de los posibles efluentes y residuos que puedan acceder a la explotación por vía aerógena o subterránea.

Instalaciones

En general, las granjas dedicadas a la producción de huevos destinados al consumo humano deberán diseñar sus instalaciones de forma que permitan un nivel aceptable de bioseguridad que prevenga la introducción de vectores de microorganismos potencialmente peligrosos para la salud humana y la sanidad animal. Deberán adoptarse medidas específicas para evitar la entrada de roedores, lo que, dada su importancia se expondrá en un capítulo específico.

El perímetro deberá estar claramente delimitado y, en la medida de lo posible, protegido.

Se mantendrá un perímetro de, al menos, 2 metros alrededor de cada nave limpio de maleza, deyecciones, residuos, envases y otros restos de la actividad ganadera, agrícola u otras que puedan servir como fuente de contaminación o como cobijo para fauna silvestre que pueda vehicular microorganismos patógenos. Además, deberá permitir una inspección visual del material de aislamiento de todo el perímetro a fin de controlar deficiencias en la construcción que pudieran favorecer el acceso de fauna salvaje al interior de la explotación por el suelo (especialmente roedores). También se evitará dejar huecos entre juntas, canalones y en tejado que puedan servir como acceso o nidificación de aves silvestres potencialmente transmisoras de la enfermedad.

Deberá evitarse la entrada de fauna salvaje mediante sistemas de protección en ventanas, entradas de aire, entradas de cables, depósitos y canalizaciones de distribución de pienso y agua, que evite la penetración en el interior de los alojamientos de cualquier ave silvestre.

Material

En las naves se mantendrá única y exclusivamente el material imprescindible y durante el tiempo necesario para el trabajo diario, debiéndose almacenar los utensilios, previamente limpios y desinfectados, en locales específicos.

Las superficies de las naves deberán ser lisas, duras, impermeables y de fácil limpieza y desinfección. En la medida de lo posible, la construcción de los edificios aledaños, como los almacenes, servicios, etc. debe ser de una calidad similar. Se evitará la presencia de material de construcción poroso (madera) en el interior de las naves a fin de facilitar la acción de los desinfectantes.

Las instalaciones, edificios y equipos serán sometidos al oportuno mantenimiento periódico.

Transporte y accesos

La entrada a las naves se realizará mediante accesos específicos claramente señalados, diseñados de forma que no sea posible acceder a la explotación sin la compañía de responsables de la misma.

Transporte

Todos los vehículos empleados en el transporte de pollitas de un día o de pollitas de recria a las naves de puesta, transporte de pienso o estiércol deberán limpiarse y desinfectarse mediante productos autorizados. Los vehículos serán sometidos a limpieza y desinfección a más tardar 24 horas después de finalizar cada jornada de trabajo y, en cualquier caso, antes de utilizarse de nuevo en el caso de transporte de animales.

Los vehículos destinados al transporte de basura y piensos deberán limpiarse antes de ir a otra explotación.

Los vehículos destinados al transporte de animales dentro de la misma granja deberán someterse al proceso de limpieza y desinfección dentro del proceso de limpieza y desinfección general de instalaciones previo a la repoblación de la granja

Deberá restringirse el acceso de vehículos a la explotación y, cuando sea estrictamente necesario (vehículos de carga y descarga de animales, pienso o eliminación de deyecciones, etc.) deberán hacerlo por itinerarios claramente delimitados y, si es posible, pavimentados, a fin de facilitar la limpieza en caso de contaminación.

Antes de su entrada al perímetro de la explotación los vehículos autorizados deberán pasar obligatoriamente por un vado conteniendo una solución desinfectante autorizada y con unas dimensiones tales que permita la desinfección total de las ruedas en todo su perímetro y altura. El vado se mantendrá limpio de residuos orgánicos e inorgánicos y la solución desinfectante se renovará periódicamente a fin de mantener la concentración adecuada de los principios activos que pueda verse afectada por las condiciones meteorológicas (evaporación y concentración por insolación o dilución por lluvias) o el paso de los vehículos.

Acceso de personal

El acceso de personal ajeno a la explotación (visitantes, comerciales, veterinarios, inspectores, etc.) deberá restringirse a lo estrictamente necesario y controlarse documentalente mediante el mantenimiento de un libro de visitas que será cumplimentado, según un modelo, en todos los casos en los que personas o vehículos ajenos a las instalaciones penetren al interior del recinto .

Antes de la entrada a las instalaciones los visitantes deberán desinfectar su calzado mediante un pediluvio conteniendo un desinfectante autorizado.

La instalación deberá contar con un espacio reservado, previo a la entrada al alojamiento de las aves, para que los visitantes procedan al cambio de su ropa

por otra (botas, mono y gorro), propia de la explotación. Asimismo, será obligatorio el cambio de botas cada vez que se acceda al interior de una nave distinta dentro de la misma explotación. Las botas se mantendrán en una solución desinfectante que se renovará periódicamente a fin de mantener la concentración adecuada de los principios activos.

Sistema de manejo

Toda la explotación deberá regirse por el sistema de manejo "todo-dentro"- "todo-fuera". Cuando las características de la misma no lo permita, este sistema deberá aplicarse forzosamente a todas aquellas naves que se encuentren comunicadas físicamente, incluida la vía aérea, y no sea posible una actuación independiente en cada una de ellas.

Muda

Habida cuenta que la muda supone un importantes estrés para los animales, en los que se acrecienta la proliferación y excreción de *Salmonella* spp. no resulta recomendable realizar extensiones de puesta mediante muda forzada en aquellas explotaciones en las que se haya detectado la presencia de salmonelosis zoonósicas. En el caso de que se pretenda realizar, deberá llevarse a cabo bajo estricta supervisión veterinaria, realizando los oportunos tratamientos mediante medicamentos o aditivos autorizados, respetando los periodos de espera correspondiente.

ANIMALES

Pollitas

Las pollitas de un día procederán exclusivamente de granjas de reproductoras controladas de acuerdo a lo establecido en el Real Decreto 2491/1994, de 23 de diciembre, o de la normativa equivalente cuando se trate de pollitas de un día procedente de otro país de la Unión Europea. En cualquier caso, únicamente se aceptará la entrada de pollitas previa presentación del correspondiente comprobante, proporcionado por el suministrador de los animales. En este certificado de origen se hará constar, como mínimo, el compromiso de cumplimiento de la citada normativa, el origen y la identificación de lote(s) de forma que se garantice la trazabilidad de los animales

También se comprobará que los medios de transporte empleados cuentan con los correspondientes certificados de limpieza y desinfección previa a la carga de los animales.

La explotación deberá contar con procedimientos de autocontrol para la identificación de *Salmonella* spp en caso de sospecha de infección en origen o durante el transporte, que se reflejarán un protocolo sanitario de control de pollitas realizado bajo la supervisión del veterinario responsable de la explotación, incluyendo los siguientes aspectos:

- ◆ Controles sanitarios exigibles a los proveedores.
- ◆ Autocontroles realizados en las pollitas a la entrada de la nave o durante la fase de recría.

- ◆ Nombre del veterinario responsable de la explotación

Los resultados de los controles de los proveedores y de los autocontroles realizados por el responsable de los animales sobre las pollitas se mantendrán a disposición de las autoridades competentes durante un periodo de, al menos, 5 años.

Animales domésticos

Deberán adoptarse las medidas oportunas para impedir el acceso de perros, gatos y otros animales domésticos a los edificios donde se críen las aves (incluyendo almacenes de pienso o material).

Animales salvajes

Todos los edificios e instalaciones deberán ser diseñados de forma que se impida el acceso a los mismos de animales salvajes (mamíferos o aves). Para ellos se mantendrán las instalaciones y su perímetro en perfecto estado de conservación y limpieza, eliminando la vegetación y desechos del perímetro, manteniendo limpios los silos de pienso y un adecuado drenaje de instalaciones y terreno para evitar el acumulo de agua.

Debe evitarse las infestaciones de roedores manteniendo las instalaciones en perfecto estado y limpias y mediante un programa integrado de desratización, incluyendo cebos y trampas, impidiendo el acceso de los roedores a los depósitos o silos de pienso y evitar su deposición en el suelo o acumulo en los comederos. Este programa se efectuará tanto dentro como fuera de las instalaciones, intensificándolo cuando se proceda al vaciado sanitario.

PIENSO Y AGUA DE BEBIDA

Pienso

Tanto el pienso acabado como las materias primas que se empleen para la elaboración de pienso en la misma explotación, deberán proceder de proveedores que garanticen el suministro de alimentos libres de *Salmonella* spp, que deberá seguir un Código de Buenas Prácticas de Fabricación para prevención y control de *Salmonella* spp y deberá realizar los oportunos controles. Estos proveedores emitirán los certificados de garantía de control de salmonella correspondientes y pondrán a disposición de los titulares de las explotaciones los resultados de los controles realizados.

En caso de no seguir un Código de Buenas Prácticas de Fabricación, el proveedor deberá justificar documentalmente que utiliza un procedimiento de fabricación eficaz para el control de *Salmonella*.

Únicamente podrán emplearse aditivos autorizados para la prevención y control de *Salmonella* spp en pienso.

Durante la fabricación, el pienso será sometido al oportuno tratamiento térmico durante el tiempo adecuado para minimizar la presencia de *Salmonella*

spp. Deberán adoptarse las medidas adecuadas para prevenir la contaminación durante el almacenamiento, la manipulación y el transporte.

El titular de la explotación deberá mantener los certificados de los proveedores de cada lote de producto recibido durante un periodo de 2 años.

El pienso acabado debe suministrarse, preferentemente, mediante vehículos destinados específicamente a este cometido. En caso de utilizarse para el transporte de otras mercancías susceptibles de transmitir *Salmonella* spp. (materias primas, animales, utensilios de granja, etc.) deberán someterse a limpieza y desinfección antes de transportar pienso otra vez.

Los conductores de los camiones o sus acompañantes no podrán entrar en los almacenes o edificios donde se encuentren los animales. En el caso de que sea imprescindible, deberán cambiar sus botas por las específicas de la explotación y utilizar ropa de protección específica.

No deberán almacenarse en silos abiertos o que permitan el acceso de aves salvajes, roedores u otros animales salvajes o domésticos aquellos ingredientes con alto riesgo de presentar contaminación, como es el caso de cereales, soja o harinas de carne o pescado. El pienso se almacenará en silos, contenedores o sacos cerrados de forma que se impida el acceso de aves y roedores. Deberá evitarse la presencia de humedad procedente del agua de lluvia o de condensación.

Los silos, contenedores, tolvas, comederos deberán mantenerse limpios y secos en todo momento.

Agua de bebida

El agua empleada en la explotación, tanto como agua de bebida o limpieza debe ser agua potable, con un nivel de cloración que asegure en todo momento una calidad bacteriológica satisfactoria. Los depósitos y conducciones deben estar diseñados de forma estanca para prevenir la contaminación y el acceso de posibles portadores. Los bebederos estarán diseñados de forma tal que se eviten el acúmulo de agua y/o pienso en los que pueda proliferar *Salmonella* spp. El agua de la explotación y los sistemas de cloración deberán someterse a controles y verificaciones de funcionamiento periódicos (mensuales) a fin de garantizar su calidad. De todos estos controles y verificaciones se mantendrán los oportunos registros que se pondrán a disposición de las autoridades competentes y se mantendrán durante un periodo de 2 años.

PERSONAL

Personal de la granja

◆ Formación e información

Deberán adoptarse las adecuadas medidas de gestión para asegurar que todo el personal de la granja, incluido el temporal o eventual, es plenamente consciente de la importancia de adoptar las medidas higiénicas generales y personales adecuadas para prevenir la infección y difusión de *Salmonella* spp. a través de manos, ropas y equipos. En la granja deberá mantenerse siempre

visible un protocolo escrito con las normas higiénicas a seguir de acuerdo a lo establecido en el Código de Buenas Prácticas de Higiene.

◆ Instalaciones, material y normas sanitarias

Cada granja o, preferiblemente, cada nave en la que se encuentre una manada de aves independiente, deberá contar con instalaciones para cambio de ropa y lavado de los operarios (incluido jabón). Las botas y monos de trabajo serán de uso exclusivo para la granja o, preferiblemente, para cada nave en la que se críen manadas de aves independientes.

El personal no tendrá contacto con otros animales. En el caso de que no sea posible, deberá proceder a la limpieza y desinfección de manos y botas cada vez que entre o salga de la nave y, en cualquier caso, utilizar botas y monos específicos para cada explotación.

Las botas serán de material de fácil limpieza y desinfección. Los monos de trabajo serán desechables o de fácil limpieza y desinfección.

Todos los trabajadores de la granja deberán someterse, de forma anual, a los correspondientes análisis médicos y, en particular, detección de *Salmonella* spp.

Si alguno de los trabajadores sufriera salmonelosis o cualquier otra zoonosis transmisible a las aves, se evitará que realice tareas que impliquen contacto con los animales o se adoptarán las medidas sanitarias excepcionales que garanticen la ausencia de contaminación.

Visitantes.

El personal de visita (comerciales, veterinarios, repartidores de pienso, etc..) pueden ser una importante fuente de transmisión de la enfermedad entre explotaciones. Sus vehículos deberán permanecer alejados de la entrada a las instalaciones y ser convenientemente desinfectados mediante vados o sistemas de limpieza y desinfección equivalentes.

La entrada de visitantes en la granja deberá restringirse a los estrictamente necesarios. Cuando sea imprescindible su entrada deberá desinfectarse su calzado y proveerles de botas y vestimenta específica de la explotación antes de entrar en las instalaciones donde se encuentren los animales.

Todos los visitantes deberán registrarse en el libro de registro de vistas.

MATERIAL

Cama o yacija

En aquellas explotaciones que se emplee una cama deberá asegurarse que se está libre de contaminación por *Salmonella* spp, por su origen y por haber sido convenientemente protegida del acceso de aves salvajes y roedores. En caso que se utilice paja, deberá cerciorarse que no procede de terrenos abonados con estiércol de aves, porcino o bovino.

La cama se transportará en vehículos previamente limpios y desinfectados y se almacenará en lugares limpios y protegidos frente a aves salvajes y roedores.

Equipamiento

El material que se emplee para la contención y transporte de los animales (jaulas, cajas), puede ser una potencial fuente de contaminación, por tanto, deberán limpiarse y desinfectarse antes de cada uso.

No deben compartirse utensilios de manejo, trabajo o transporte con otras granjas o cuando en una misma granja existan rebaños o manadas de distintas especies. Si es estrictamente necesario compartir el uso deberán limpiarse y desinfectarse concienzudamente después de cada uso y antes de volver a emplearlos en otra especie.

Se dispondrá de aparatos para la limpieza y desinfección para el tratamiento de material y vehículos antes que entren en la granja.

ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

Tanto los animales muertos como los enfermos que hayan de ser sacrificados se eliminarán tan pronto como sea posible, al menos a diario, y se almacenarán en contenedores específicos, herméticos y a prueba de humedades, roedores y otros animales salvajes.

La yacija que se elimine de la explotación deberá almacenarse igualmente en las mismas condiciones.

Tanto los restos de cadáveres, yacija, plumas y otros subproductos de la explotación no destinados al consumo humano, deberán recogerse, transportarse, almacenarse, manipularse, transformarse, utilizarse o eliminarse en conformidad con los procedimientos establecidos en la legislación vigente (Reglamento (CE) 1774/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen las normas sanitarias aplicables a los subproductos animales no destinados a consumo humano).

Los utensilios y vehículos empleados en la manipulación y transporte de estos restos deberán limpiarse y desinfectarse después de cada uso.

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE LA GRANJA DESPUES DE CADA FASE PRODUCTIVA Y PREVIA A LA INTRODUCCIÓN DE NUEVOS ANIMALES

Una vez finalizada cada fase de producción, y antes de introducir nuevos animales en la granja, deberá ejecutarse un cuidadoso programa de eliminación de residuos, desinfección, desinsectación y control de roedores. Este proceso debe realizarse de forma rutinaria en todas las granjas donde se críen manadas de aves productoras de huevos destinados al consumo humano.

El programa que se emplee deberá ser capaz de eliminar *Salmonella* spp del medio ambiente y deberá llevarse a cabo completamente incluso aunque no se

haya detectado la presencia de *Salmonella* spp. en el lote anterior. En caso de que sí se haya detectado en el lote anterior, deberá dejarse suficiente tiempo antes de introducir nuevos animales de forma que se permita una limpieza y desinfección exhaustiva, un control microbiológico posterior y, en caso necesario, una repetición del programa.

El programa deberá ejecutarse en todas las instalaciones que tengan una comunicación física o aerógena, a fin de evitar transmisión del agente causal por aerosoles o efluentes. En aquellas explotaciones que tengan animales en distintos estados productivos deberán tomarse las medidas de precaución necesaria para evitar la transmisión (mediante aerosoles, efluentes o personal de la granja) de las granjas todavía ocupadas o de éstas a las naves limpias y desinfectadas, pudiendo contaminar a los nuevos animales que se introduzcan.

Es recomendable elaborar un listado de control incluyendo cada paso del proceso de limpieza, desinfección y desratización a fin de asegurar el cumplimiento efectivo de todo el programa.

El personal que participe en las tareas de limpieza, desinfección, desinsectación y desratización deberá tomar las medidas protectoras adecuadas en cumplimiento de la normativa en materia de seguridad e higiene en el trabajo.

El periodo de tiempo comprendido entre la salida de todos los animales y la entrada de los nuevos y la organización de la limpieza y desinfección de las instalaciones debe ser el máximo posible para garantizar un adecuado vacío sanitario. El programa deberá planificarse con antelación para evitar el acúmulo de deyecciones y suministros (principalmente pienso) que después deberán ser convenientemente eliminados. También se tendrá en cuenta las posibles actividades conexas con la limpieza y desinfección, en particular la realización de las reparaciones o sustituciones de instalaciones y material.

Las operaciones de control de insectos y roedores también se realizarán de forma rutinaria. Si durante la fase productiva se ha detectado la presencia de infestaciones por roedores, deberá procederse a la adopción de medidas de control intensivas (mediante cebos autorizados y registrados o trampas) a fin reducir la población de roedores, evitar su dispersión al medio ambiente y su potencial regreso a las instalaciones una vez introducidos los nuevos animales.

Los pediluvios desinfectantes deberán mantenerse a la entrada de las naves durante el proceso de limpieza y desinfección y sustituirse por unos nuevos una vez finalizado.

Limpieza, desinfección y desinsectación

Cada explotación deberá disponer de un protocolo de limpieza, desinfección y desinsectación de naves, por escrito y supervisado por el veterinario responsable, que deberá aplicarse, al menos, después de cada crianza, siendo obligatorio un vacío sanitario mínimo de 21 días durante los que se aplicarán estas medidas. Durante este periodo estará prohibido el llenado o el acceso de animales domésticos a las naves. En caso de que durante un ciclo de puesta, por rotura de los huevos o por otro motivo, se ensucien los equipos de transporte de

huevos y, especialmente, los materiales en contacto con ellos, deberán someterse a limpieza y desinfección inmediata. En caso de naves en las que se hayan dado casos positivos durante el periodo de puesta deberán aplicarse los programas de desinfectación, desinsectación y desratización en el periodo más breve posible y verificarse la ausencia de *Salmonella* previamente a la introducción de un nuevo lote de animales.

Estos programas de descontaminación deberán llevarse a cabo de forma concienzuda, sistemática, con equipo adecuado en materia de seguridad e higiene en el trabajo y personal con entrenamiento específico, debiendo justificarse documentalmente con los oportunos certificados.

El protocolo de limpieza y desinfección deberá prever, al menos, las siguientes medidas:

Limpieza en seco

Los animales muertos, restos de animales, basura y pienso sobrante deberán eliminarse de la explotación a fin de eliminar toda materia orgánica que pudiera dificultar la actuación de los desinfectantes.

Toda la nave será tratada con biocidas específicamente autorizados a fin de eliminar todos los posibles vectores (artrópodos o roedores). En casos de infestaciones graves deberá repetirse el tratamiento. Los cebos para los roedores se eliminarán antes del proceso de lavado y desinfección y deberán reemplazarse por cebos nuevos y desinfectados inmediatamente después de finalizar la desinfección.

El polvo que se pueda producir durante la limpieza en seco deberá eliminarse antes de proceder al lavado de la instalación.

Los suelos de la nave y partes aledañas, depósitos de agua y pienso, cintas de transporte de huevos y otros utensilios de manejo, pasillos y otros edificios en conexión con la nave, deberán estar limpios de residuos y polvo. Las partes externas del edificio en proximidad a puntos de entrada también deberán limpiarse.

Lavado

El lavado de las instalaciones se realizará con agua potable y detergentes u otros surfactantes autorizados a fin de favorecer la eliminación de la suciedad adherida, seguido de un secado rápido. En la medida de lo posible se empleará agua caliente. Deberán emplearse sistemas limpieza a baja presión (200-300 psi) o elevada (750-2000 psi) según las zonas a fin de favorecer la eliminación de la suciedad adherida.

En aquellos lugares y equipos en los que no sea posible utilizar dichos sistemas se realizará limpieza manual y habrá que desconectar la instalación eléctrica antes de iniciar un proceso de lavado húmedo. Aquellas instalaciones que no sean impermeables deberán limpiarse con otros métodos.

El lavado deberá afectar a suelos, paredes, jaulas, comederos, bebederos, y utensilios, incluyendo los huecos o recovecos, cintas de transporte, cadenas, etc., incluyendo dependencias anejas como cuartos de baño, almacenes de utensilios, piensos, depósitos de pienso y agua de bebida y deberá comenzarse desde la parte más alejada a la entrada hacia la más próxima, empezando por el techo, seguido de las paredes y, finalmente, el suelo. También se incluirá el exterior de la explotación, fundamentalmente las partes aledañas a las zonas de entrada y ventilación.

En granjas en las que se hayan detectado la presencia de *Salmonella* zoonóticas el agua de lavado será tratada adecuadamente antes de su eliminación.

Finalizada la fase de lavado se procederá al aclarado con agua potable.

Deberá evitarse la formación de acumulos de agua que permitan la supervivencia o multiplicación de salmonellas, debiendo garantizarse que todas las dependencias se encuentran totalmente secas en un periodo de tiempo no superior a 24 horas.

Reparación

Una vez limpias y secas las instalaciones deberá procederse a la reparación y sellado de todos los huecos o deficiencias estructurales que puedan servir como reservorio o puerta de entrada de *Salmonella* o vectores.

Desinfección

La desinfección deberá realizarse inmediatamente (no debiéndose prolongar más de 24 horas después del aclarado) y una vez secas las instalaciones, después de verificar visualmente la eficacia del sistema de limpieza.

La desinfección se realizará mediante biocidas autorizados según las condiciones de utilización recomendadas en las instrucciones de uso para la eliminación de *Salmonella*.

En la elección del sistema de desinfección deberá tenerse en cuenta la presencia de materiales porosos (madera, suelo de tierra) materia orgánica, o materiales sensibles a ciertos desinfectantes sobre los que pudiera ser necesario realizar tratamientos específicos.

Deberán ser desinfectados todas las superficies, materiales y utensilios con especial atención en aquellos puntos que pudieran servir como reservorio y fuente de diseminación de *Salmonella*, como conductos de ventilación, tuberías etc.

También deberán desinfectarse todos los locales comunicados con la nave de producción y las partes externas en la proximidad de las zonas de acceso o ventilación.

Evaluación microbiológica después de la limpieza y desinfección

En general y, sobre todo, en aquellas granjas en las que se haya detectado una contaminación por *Salmonella*, es necesario comprobar la eficacia de los sistemas de limpieza y desinfección antes de introducir nuevos animales. En casos de persistencia sería aconsejable una nueva desinfección. No obstante, en caso de que no sea posible realizarla por premura de tiempo para la introducción de nuevos animales deberá tenerse en cuenta los resultados para tomar las correspondientes medidas preventivas y, en particular, vacunar de forma obligatoria la siguiente manada frente a *Salmonella* spp zoonósica y corregir los protocolos de limpieza y desinfección para el futuro.

Las muestras para verificar la eficacia de los sistemas de limpieza y desinfección, se tomarán una vez se haya procedido a la completa ventilación de las instalaciones, sobre todo si se han empleado sistemas de desinfección por fumigación o nebulización. En cualquier caso es necesario que las instalaciones se encuentren secas de los desinfectantes empleados.

Se tomarán muestras de aquellos lugares en los que sea probable la persistencia de *Salmonella* como es el caso de suciedades que puedan permanecer en oquedades, grietas o agujeros de suelos y paredes. Se emplearán hisopos estériles para tomar muestras de lugares de difícil acceso, como tuberías, extractores de aire, comederos, depósitos de pienso, bebederos, superficies de madera, ventiladores. Cualquier roedor que se encuentre muerto también deberá analizarse.

Las muestras se analizarán, en los laboratorios autorizados a tal fin, lo antes posible en busca de *Salmonella* spp.

Desinsectación

Una vez finalizada la desinfección y la valoración microbiológica, se procederá a la desinsectación de las instalaciones mediante productos convenientemente autorizados y registrados por la autoridad competente y siguiendo las instrucciones del titular de la autorización.

De la misma forma, se revisarán las protecciones instaladas en ventanas, extractores y otras posibles vías de entrada de los insectos. Las mallas de protección deberán tener un tamaño de entramado que evite el paso de insectos y otros posibles agentes transmisores de *Salmonella* spp.

Desratización y control de roedores

Las heces de los roedores contaminados con *Salmonella* son una de las principales fuentes de amplificación de la infección, vía alimentación, por salmonella en las granjas. Además de este efecto de amplificación, los roedores se convierten en la principal forma de contaminación entre distintas naves y explotaciones. En consecuencia, es imprescindible tomar medidas eficaces de prevención y control de roedores.

Estos programas deben realizarse inmediatamente después de proceder a la limpieza y desinfección de las instalaciones, mediante la instalación de cebos y

trampas tanto en el interior como en el exterior de las misas, incluyendo todo el perímetro de la explotación.

Estos tratamientos se realizarán mediante procedimientos autorizados y registrados, en el caso de los raticidas siguiendo las instrucciones del responsable de la comercialización de los productos.

Los cebos y trampas se mantendrán en perfectas condiciones de uso durante toda la estancia de las aves en las granjas, debiéndose evitar, en todo momento, que las aves tengan acceso a los cebos.

CONTROLES DE SALMONELOSIS ZONÓNICAS

El titular de explotaciones de aves ponedoras de huevos destinados al consumo humano será el responsable de llevar a cabo los controles pertinentes para identificar la presencia de *Salmonella enteritidis* y/o *typhimurium* en las manadas de aves de la granja. El conocimiento sobre el estado sanitario de las manadas será determinante, además de proteger la salud pública de las posibles consecuencias de la diseminación de *Salmonella* zoonóticas, para contrastar la eficacia de las medidas de bioseguridad implantadas en la granja y tomar la oportunas medidas correctoras en caso que se detecten errores en el control de la salmonelosis.

Los controles de los serotipos de *Salmonella* spp. con importancia sanitaria, establecidos en la legislación vigente, establecen la obligatoriedad de toma de muestras en las pollitas de un día, dos semanas antes de entrar en la fase o unidad de puesta y cada 15 semanas en la fase de puesta.

La toma de muestras deberá realizarse de una forma adecuada y homogénea a fin de disponer de unos resultados fiables.

CONTROLES

Controles a realizar

La toma de muestras rutinarias en todas las granjas de producción se efectuarán según los parámetros establecidos en la Tabla 4.

Tabla 4: Parámetros de toma de muestras en las granjas.

Zoonosis/a gente zoonótico	Manadas de aves productoras de huevos destinados al consumo humano	Fases de la producción que debe cubrir la toma de muestras
<i>Todos los serotipos de Salmonella de importancia en salud pública</i>	1.1. Manadas de cría. 1.2. Aves productoras adultas.	I. Pollitas de un día II. Pollitas, 2 semanas antes de entrar en la fase o en la unidad de puesta III. Cada 15 semanas durante la fase de puesta.

La totalidad de los resultados de los análisis y controles efectuados sobre una manada, incluidos los de la incubadora referidos a dicha manada, deben ser conservados por el propietario de los animales durante al menos 2 años y estar a disposición de los Servicios Oficiales Veterinarios.

Las muestras serán acondicionadas y precintadas de manera que se garantice la identidad y seguridad de las muestras con su contenido hasta su llegada al laboratorio autorizado.

REGISTROS

Los titulares de explotaciones ganaderas de aves ponedoras de huevos destinados al consumo humano deberán llevar y conservar registros sobre las medidas aplicadas para controlar y prevenir la presentación de *Salmonella* spp zoonótica a las que hace referencia esta Guía de Buenas Prácticas. En particular deberán llevar registros sobre:

- a) Libro registro de visitas
- b) Libro registro de tratamientos medicamentosos/recetas veterinarias
- c) Certificados origen pollitas
- d) Resultados controles *Salmonella* spp en pollitas de 1 día, recria y puesta.
- e) Certificados origen piensos/materias primas
- f) Resultados controles piensos/materias primas
- g) Certificados mantenimiento sistema cloración agua
- h) Certificados desinfección
- i) Certificados desinsectación
- j) Certificados desratización
- k) Certificados desinfección vehículos
- l) Registro destino lotes huevos producidos
- m) Registro enfermedades producidas en la explotación con repercusión en sanidad pública

Para la conservación de dichos registros, los titulares de las explotaciones de aves productoras de huevos destinados al consumo humano podrán ser asistidos por los veterinarios responsables de la explotación.

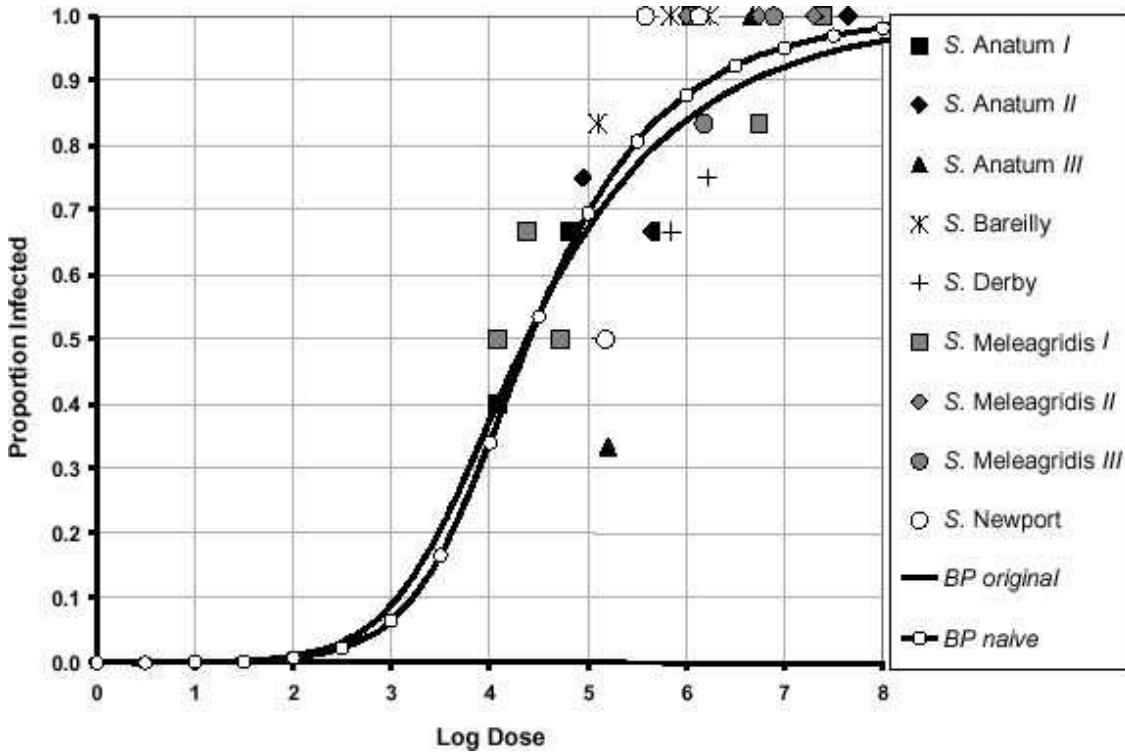
5.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- D'Aoust, J.Y. (1994) *Salmonella* and the international food trade. Int. J. Food Microbiol., 24, 11-31.
- Coll Jordá, D. (2007) Prevalencia de *Salmonella* spp en los huevos comercializados en la Comunidad Autónoma del País Vasco. Salud Pública 22: 8-9 (2º semestre).
- D'Aoust, J. Y. and J. Maurer (2007) *Salmonella* species. En: Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers. Third edn. (Doyle, M.P. & Beuchet, L. R., eds.). ASM Press-Washington, D.C. pp. 187-236.
- EFSA. (2006). Preliminary Report on the Analysis of the baseline study on the prevalence of *Salmonella* in laying hen flocks of *Gallus gallus*. The EFSA Journal 81, 1-71.
- Elika, 2008. Estudio cuantitativo del consumo de alimentos en la CAE - Año 2007. Eusko Jaurlaritz, Servicio de Publicaciones.
- Euzèby, J.P. (2007). List of prokaryotic names with standing in nomenclature. *Salmonella* nomenclatura (disponible en: <http://www.bacterio.cict.fr/salmonellanom>).
- Fazil, A.M. (1996). A quantitative risk assessment model for *Salmonella*. Drexel University, Philadelphia PA. [Dissertation].
- FDA (2004). Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. *Salmonella* spp. (disponible en <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap1.html>)
- Hope, B.K., A.R. Baker, E.D., Ede, A.T. Hogue, W.D, Schlosser, R. Whiting, R.M. MacDowell and R.A. Morales (2002) An overview of the *Salmonella* Enteritidis risk assessment for shell eggs and egg products. Risk Analysis 22 (2) , 203-218 (disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap1.html>)
- Humphrey T. (2004) *Salmonella*, stress responses and food safety. Nat Rev Microbiol. Jun;2(6):504-9.
- ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods (2005). Microorganisms in foods 6. Microbial ecology of food commodities. 2nd edition. A second, further updated edition is published by Kluwer Academic & Plenum Publishers- New York:
- ICMSF. - International Commission on Microbiological Specifications for Foods (1996). Microorganisms in Foods 5. Microbiological specifications of food pathogens. Blackwell Scientific Publications-Oxford.
- Lehmacher A, Bockemühl J, Aleksic S. (1995) Nationwide outbreak of human salmonellosis in Germany due to contaminated paprika and paprika-powdered potato chips. Epidemiol Infect. Dec;115(3):501-11.
- Madigan, M.T. , J.M. Martinko y J. Parker (2004). Brock. Biología de los microorganismos. 10ª edn. Pearson Educación, Madrid.
- Miyamoto, T., E. Baba, T. Tanaka, K. Sasai, T. Fukata and A. Arakawa (1997) *Salmonella* enteritidis contamination of eggs from hens inoculated by vaginal, cloacal, and intravenous routes. Avian Diseases, 41, 296-303.
- Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (2008) Consumo alimentario en España (disponible en: <http://www.mapa.es>).
- Oemichen W. (1995) Journal of the Association of Food and Drugs Officials 53 (3) 48-68.

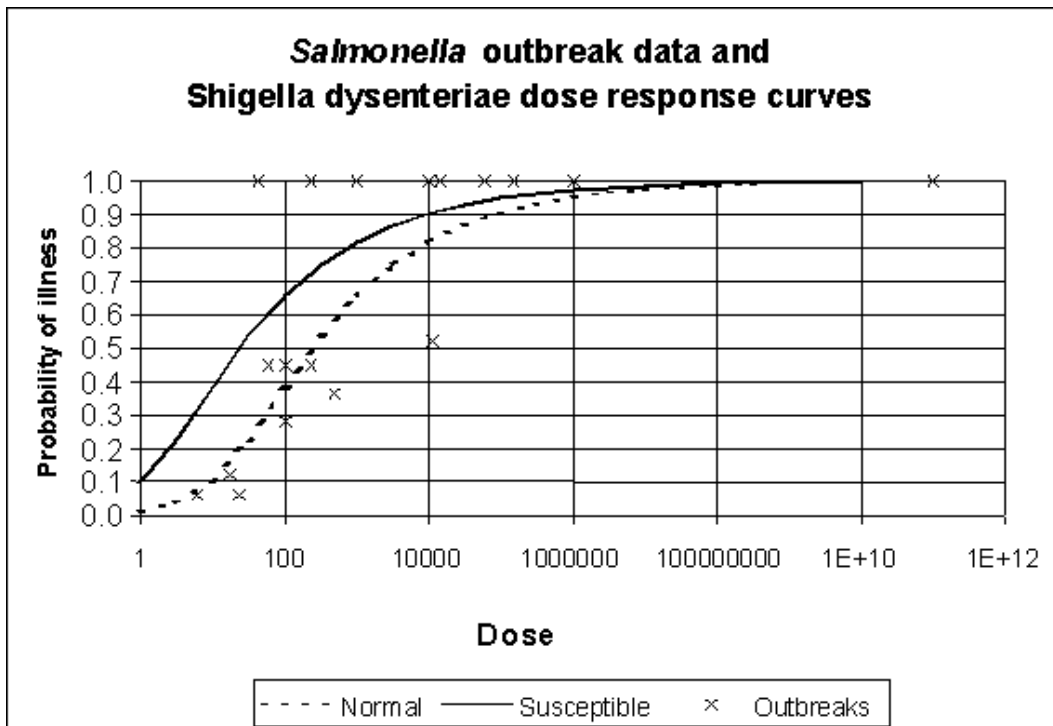
- Polotsky, Y., E. Dragunsky and T. Khavkin (1994) Morphological evaluation of the pathogenesis of bacterial enteric infections. *Critical Reviews in Microbiology*, 20, 161-208.
- Ross, T and Sumner, J. (2002) A semiquantitative seafood safety risk assessment. *Int. J. Food Microbiol.*, 77 (1-2) 55-59.
- Salud Pública 1997-2006. Departamento de Sanidad, Gobierno Vasco (<http://www.osasun.ejgv.euskadi.net>)
- Tindall, B. J., P. A. D. Grimont, G. M. Garrity and J. P. Euzéby (2005). Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 521-524. (Disponible en: <http://www.bacterio.cict.fr/s/salmonella.html>)
- Vought KJ, Tatini SR. (1998) *Salmonella enteritidis* contamination of ice cream associated with a 1994 multistate outbreak. *J Food Prot.* Jan;61(1):5-10.
- WHO/FAO - World Health Organization and Food and Agriculture Organization. (2002) Risk Assessments of *Salmonella* in Eggs and Broiler Chickens - 2. Microbiological Risk Assessment Series. 2002. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/005/Y4392E/y4392e00.HTM> (28 de Abril de 2008)

ANEXO I: Curvas dosis-respuesta (FAO/OMS, 2002)

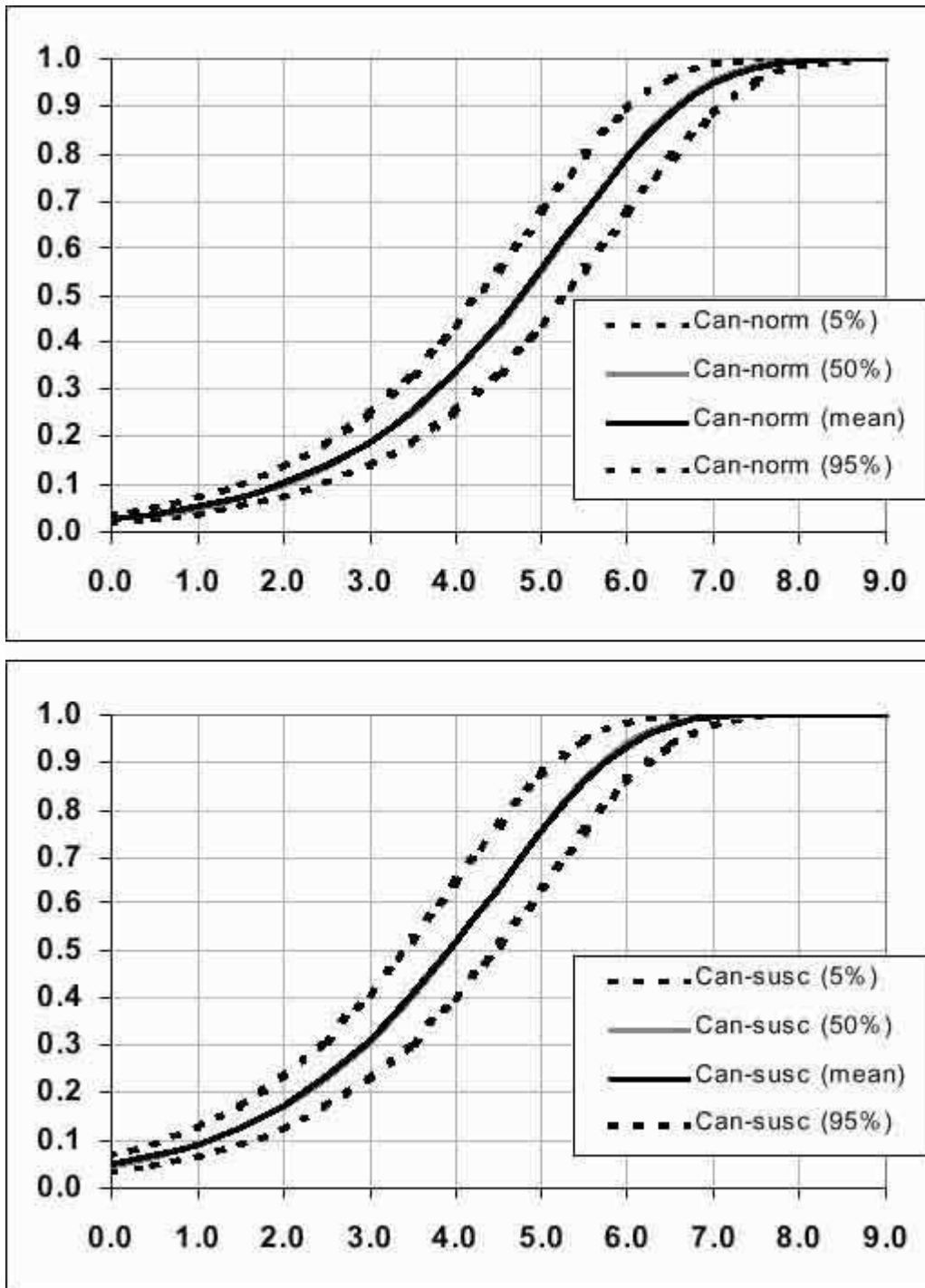
- ✓ Comparison between dose-response model fitted to original feeding trial data and feeding trial data for naive subjects.



- ✓ USDA comparison of available *Salmonella* outbreak investigation data and beta-Poisson dose-response curves for *Shigella dysenteriae* estimated for normal and susceptible subpopulations (USDA-FSIS, 1998).

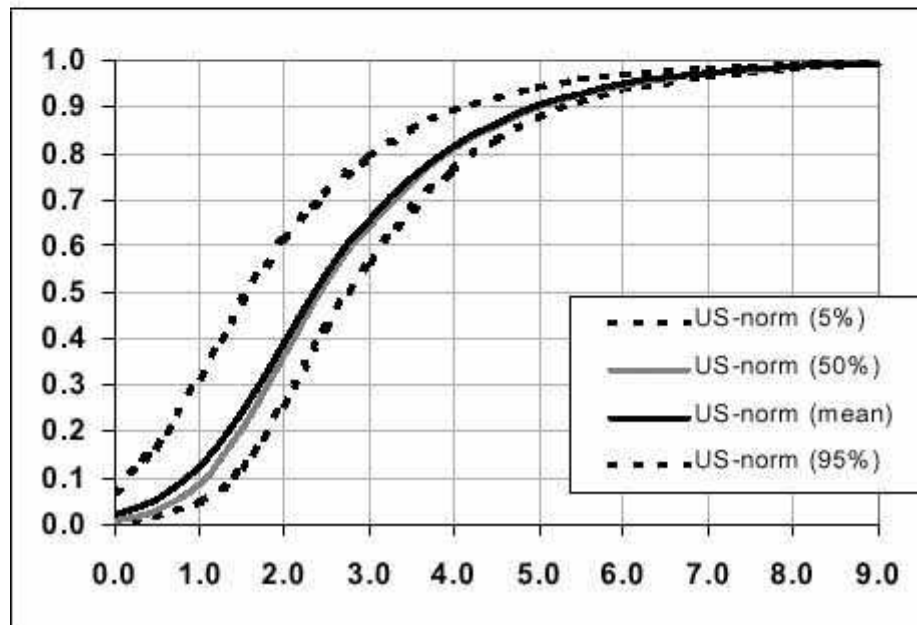
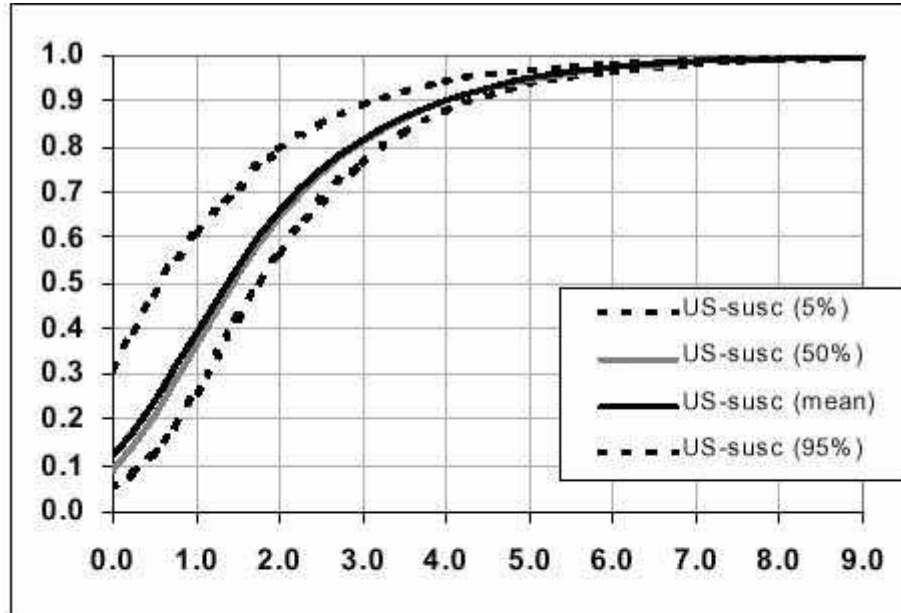


- ✓ Dose-response curves for normal (*Can-norm* - upper panel) and susceptible (*Can-susc* - lower panel) populations, as estimated in Canadian *Salmonella* Enteritidis risk assessment)

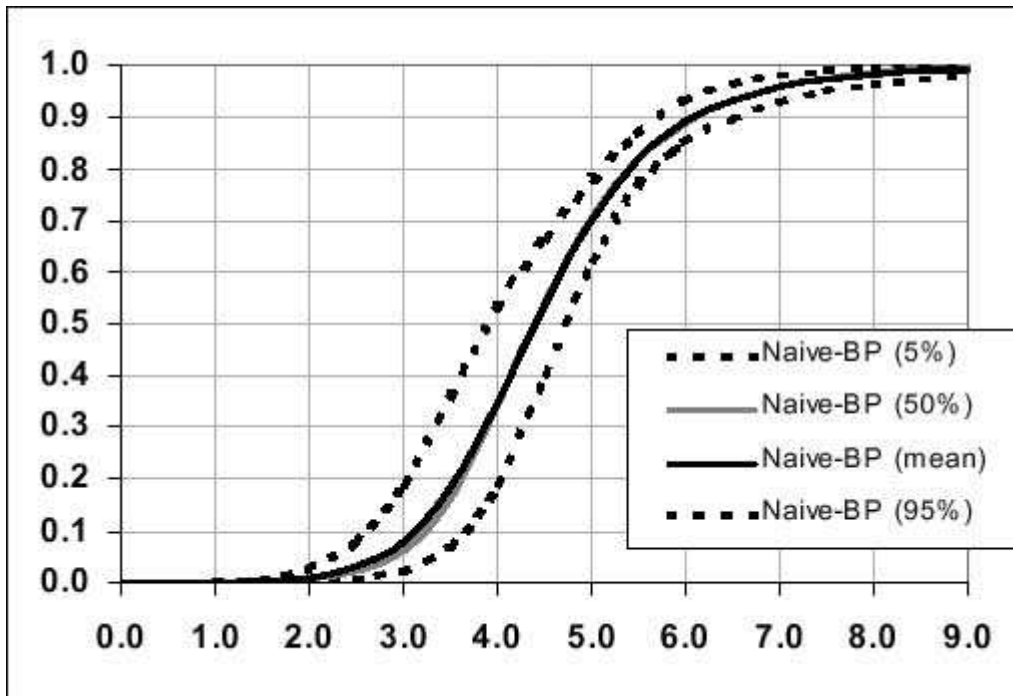


Can-norm se refiere a la curva dosis-respuesta de la población canadiense normal, *Can-susc* a la población susceptible.

- ✓ Dose-response curves for normal (US-norm - upper panel) and susceptible (US-susc - lower panel) populations, as estimated in the US SE RA



- ✓ Beta-Poisson dose-response curve fitted to naive subject non-typhi *Salmonella* human feeding trial data (Naive-BP).



- ✓ Comparison between five dose-response curves: Can-norm, Can-susc, US-norm, US-susc and Naive-BP.

