

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE  
GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA

**“REDUCCION DE LA COLONIZACION  
POR Salmonella enteritidis A  
TRAVES DE LA EXCLUSION  
COMPETITIVA EN UN DESAFIO  
CONTROLADO A NIVEL DE  
LABORATORIO EN POLLOS DE  
ENGORDE”**

POR

**JOSE IGNACIO CASTILLO MARROQUIN**

**JUNIO DEL 2,000**

**HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

CUMPLIENDO CON LO ESTABLECIDO POR LOS ESTATUTOS DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, PRESENTO A  
VUESTRA CONSIDERACION EL TRABAJO DE TESIS TITULADO:

**REDUCCION DE LA COLONIZACION POR Salmonella  
Enteritidis A TRAVEZ DE LA EXCLUSION COMPETITIVA EN UN  
DESAFIO CONTROLADO A NIVEL DE LABORATORIO EN POLLOS  
DE ENGORDE.**

QUE ME FUERA APROBADO POR LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD  
DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA PREVIO A OPTAR EL  
TITULO PROFESIONAL DE:

**MEDICO VETERINARIO**

**JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**DECANO:** LIC. RODOLFO CHANG SHUM  
**SECRETARIO:** DR. MIGUEL AZAÑÓN  
**VOCAL PRIMERO:** LIC. RÓMULO GRAMAJO  
**VOCAL SEGUNDO:** DR. FREDY GONZALEZ  
**VOCAL TERCERO:** LIC. EDUARDO SPIEGELER  
**VOCAL CUARTO:** BR. JEAN PAUL RIVERA  
**VOCAL QUINTO:** BR. FREDDY CALVILLO

**ASESORES:**

**DR. EDUARDO SANTOS**  
**DRA. LUCERO SERRANO**  
**DRA. BEATRIZ SANTIZO**  
**DR. JAIME MENDEZ**

## **TESIS QUE DEDICO**

### **A NUESTRO PADRE CELESTIAL Y SU HIJO JESUCRISTO**

Por instruirme en cuanto a que su Gloria es la inteligencia, y por ser parte del plan de Salvacion para con sus hijos.

### **A MIS PADRES**

Ignacio Castillo Nova y Blanca Flor Marroquín Juárez de Castillo (Q.E.P.D) por todos sus sacrificios, enseñanzas y amor a lo largo de mi vida.

### **A MIS ABUELOS**

Tito de Jesus Castillo Guerra (Q.E.P.D). y Elvira Acevedo de Castillo por su amor ilimitado, sabios consejos y ejemplos de servicio.

### **A MIS HERMANOS**

Claudia Cecilia (Q.E.P.D), Blanca Cecilia, y Nefi David por su apoyo.

### **A MIS TIOS**

Maria , Lucrecia Castillo , y en especial a Marco Tulio Marroquín por enseñarme en cuanto a la responsabilidad del trabajo.

### **A MIS ASESORES**

Dr. Eduardo Santos  
Dra. Lucero Serrano  
Dra. Beatriz Santízo  
Dr. Jaime Méndez

### **A MIS AMIGOS**

Luis y Ronando Amado por depositar en mi su confianza

### **A LA FAMILIA**

Navas Barrera por su amistad

### **A MIS COMPAÑEROS**

Especialmente a Juan Pablo Calderón, Fernando Solorzano, Freddy Calvillo, Sandra Avila, Karla Rosa, Oscar Castro, Daniel Sandoval , Jimmy Pezzarozzi, Miguel Silva, Jorge García, Victor Mérida todos mis demás compañeros por todos los momentos que compartimos juntos.

### **A MIS PADRINOS**

Dr. Victor Manuel Marroquín M.  
Dra. Miriram Marroquín M.  
Ing. Mario Montufar M.  
Ing. Elizabeth Marroquín M.  
Por su apoyo en la realización de mis metas.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A:**

**La Universidad de San Carlos de Guatemala**

**La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

### **Mis asesores**

Por su paciencia y apoyo incondicional en la realización de este trabajo de investigación

### **BAYER DE CENTROAMERICA**

Por la orientación técnica y apoyo financiero.

### **Maritza de Paiz y Carlos Ozeida**

de la Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por su valiosa colaboración

### **PERSONAL DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

De la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por su valiosa ayuda en el desarrollo de este trabajo de tesis.

### **PERSONAL DEL DEPARTAMENTO DE ORNITOPATOLOGIA Y AVICULTURA**

De la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

### **A MIS CATEDRATICOS**

Que me instruyeron en cuanto a la ciencia y la búsqueda de conocimiento en especial a los Doctores Mario Monroy, Leonidas Avila, Fredy González, Rolando Matamoros, Francisco Estrada, Otto Lima, Miguel Angel Ruiz, José Roma, Jorge Miranda y Grizelda Arizandieta.

### **AL SISTEMA EDUCATIVO DE LA IGLESIA DE JESUCRISTO DE LOS SANTOS DE LOS ULTIMOS DIAS.**

Especialmente a los coordinadores del Instituto San Carlos, por instruirme en cuanto al conocimiento y valor espiritual de las cosas.

### **A USTED**

Con especial afecto y respeto.

## INDICE

	PAGINA
I. INTRODUCCION	1
II. HIPOTESIS	2
III. OBJETIVOS	2
IV. REVISION DE LITERATURA	3
1. DEFINICION	3
2. CLASIFICACION SEROLOGICA	3
3. HISTORIA	5
4. IMPORTANCIA ECONOMICA	5
5. DISTRIBUCION	6
6. EPIDEMIOLOGIA	7
7. SUSCEPTIBILIDAD	9
8. TRANSMISION	10
9. PERIODO DE INCUBACION	12
10. SIGNOS CLINICOS	12
10.1 PULLOROSIS	12
10.2 TIFOIDEA AVIAR	13
10.3 INFECCIONES PARATIFOIDEAS	13
11. LESIONES	
11.1 PULLOROSIS	14
11.2 TIFOIDEA AVIAR	15
11.3 INFECCIONES PARATIFOIDEAS	15

12.	DIAGNOSTICO	15
	12.1. DIAGNOSTICO SEROLOGICO	15
	12.1.3 Prueba de Aglutinación Rápida en Placa con sangre	18
	12.1.4 Prueba de Aglutinación Rápida en Placa	18
	12.1.5 Prueba de Aglutinación Lenta en tubo	18
	12.2 TEST DE PCR (Polymerase Chain Reaction)	19
13.	CONTROL Y PREVENCIÓN	19
	13.1 CONTROL A TRAVEZ DE ACIDIFICANTES	20
	13.2 CONTROL A TRAVES DE VACUNAS	20
	13.3 CONTROL A TRAVES DE EXLCUSION COMPETITIVA Y PROBIOTICOS	21
14.	TRATAMIENTO	21
15.	IMPORTANCIA EN SALUD PUBLICA	23
16.	USO DE LA EXCLUSION COMPETITIVA EN EL CONTROL DE LA SALMONELLOSIS	24
	16.1 HISTORIA	24
	16.2 DEFINICION	24
	16.3 OBTENCION DE MATERIAL PROTECTOR	25
	16.4 MECANISMOS DE ACCION	26
	16.4.1 Químicos	26
	16.4.2 Biológicos	26
	16.4.3 Físicos	27
	16.4.4 Bioquímicos	27
	16.4.5 Nutricional	27
	16.5 EXIGENCIAS DE UN PRODUCTO EFICAZ	28
	16.5.1 Control de calidad y elaboración de pruebas De eficacia	30
	16.6 COMPATIBILIDAD CON OTROS MEDICAMENTOS	31

V.	MATERIALES Y METODOS	32
	1. MATERIALES	32
	2. METODOS	34
VI.	RESULTADOS Y DISCUSION	38
VII.	CONCLUSIONES	40
VIII.	RECOMENDACIONES	41
IX.	RESUMEN	42
X.	ANEXOS	43
XI.	BIBLIOGRAFIA	47

Guatemala 11 de Mayo del 2000

Lic. Rodolfo Chang Shum  
Decano de la Facultad de Med. Vet. y Zoot.  
Presente.

De la manera mas atenta me dirijo a usted, para solicitarle pueda dar tramite y asignar el revisor final correspondiente, a mi trabajo de tesis, titulado "Reducción de la colonización por Salmonella enteritidis a través de la Exclusión Competitiva en un desafío controlado a nivel de laboratorio en pollos de engorde" previamente aprobado por la junta directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, según la ref. S.587.09.99 la cual adjunto.

Deferentemente:

Br. Jose Ignacio Castillo Marroquín  
Carnet 9113875

## I. INTRODUCCION.

Debido a las tendencias actuales de globalización, y apertura de mercados, la avicultura en Guatemala ha cobrado auge en los últimos años, creándose la necesidad de mejorar la calidad total de sus productos, estableciéndose un control de calidad más específico para la competencia en mercados nacionales e internacionales.

Dentro de lo que corresponde a la calidad total, el control de enfermedades como Salmonelosis ha recibido importancia capital a nivel mundial tanto en humanos como en animales, ya que siendo una zoonosis puede resultar en enfermedad grave y siempre constituye un reservorio potencial para la enfermedad en los humanos.

Es por eso que la avicultura demanda una avanzada tecnificación y conocimientos de nutrición, sanidad y manejo de las aves.

Tomando en cuenta que los productos obtenidos de las aves son una importante fuente de proteína para sus consumidores, la importancia del control de enfermedades como la Salmonelosis se inicia aún mucho antes de que nazcan los mismos.

El presente trabajo tiene como fin, evaluar la eficacia del método de Exclusión Competitiva como control en la reducción de colonización de Salmonelas en pollos para evitar la infección en las aves como la posible contaminación y la intoxicación alimentaria en los humanos.

## **II. HIPOTESIS**

“La reducción en la colonización por Salmonella a través de la Exclusión Competitiva es eficaz ante el desafío de Salmonelosis aviar”.

## **III. OBJETIVOS**

### **General:**

Contribuir al estudio de la enfermedad infectocontagiosa de la Salmonelosis que afecta las aves domésticas y el hombre.

### **Específico.**

Determinar la eficacia de la reducción de colonización por Salmonellas en pollos de engorde por medio del uso de la Exclusión Competitiva.

#### IV. REVISION DE LITERATURA.

##### 1. DEFINICION.

La salmonelosis es una enfermedad bacteriana infecto contagiosa que afecta a la mayoría de los animales y al hombre, incluyendo las aves domésticas; es producida por especies de genero Samonella, causan daño tanto en aves adultas como jóvenes manifestándose en forma aguda como crónica, siendo estas específicas para cada una de las especies animales (17); de alta importancia económica y en salud pública (35). En las gallinas son dos las que se consideran de importancia económica por las perdidas que ocasionan: Salmonella pullorum y Salmonella gallinarum, y en intoxicaciones alimenticias para los humanos: Salmonella tiphymurium y Salmonella enteritidis. (3, 17, 23, 31).

##### 2. CLASIFICACION SEROLOGICA.

Recientemente fue introducida una nueva clasificación del género Salmonella, siendo esta de la siguiente manera:

Phylum: Protophyta  
Clase: Schizomycetes  
orden: Eubacteriales  
Familia: Enterobacteriaceae  
Genero: Salmonella  
Especie: Salmonella entérica

Subespecies: S. entérica subespecie entérica constituida por 1367 serovares (serovares- serotipos) donde se encuentra los serovares de importancia para las aves comerciales y algunos para el hombre.

Salmonella entérica subespecie entérica serovariedad pullorum

**Salmonella entérica subespecie entérica serovariedad gallinarum**

Salmonella entérica subespecie entérica serovariedad enteritidis

Salmonella entérica subespecie entérica serovariedad

typhimurium

(35).

Miles R.D. reportó el descubrimiento de 2,300 serotipos de Salmonella y el descubrimiento de nuevos serotipos en los últimos años (13).

Con respecto a la epidemiología de la enfermedad en las aves, los serotipos de la salmonella se pueden dividir en tres grandes grupos. El primero contiene serotipos que producen de forma característica una enfermedad sistémica; con frecuencia la enfermedad se limita únicamente a las aves. Entre tales serotipos se encuentran Salmonella pullorum y Salmonella Gallinarum, estos serotipos rara vez producen intoxicación alimentaria. La Salmonella pullorum produce la “Diarrea blanca bacilar” o “Pulorosis” de los pollitos, mientras que la Salmonella gallinarum es una variante altamente patogénica que produce tifoidea aviar en aves de todas las edades.

El segundo grupo contiene la mayoría de los serotipos de Salmonella, muchos de los cuales frecuentemente se aíslan de alimentos balanceados, el medio ambiente y las aves, la mayoría o mas bien todos ellos son capaces de producir intoxicación alimentaria pero generalmente no producen enfermedades en las aves. De esta forma la importancia para las aves radica en que esta está relacionada a su significancia en la Salud Publica.

El tercer grupo comprende serotipos S. tiphymurium y S. enteritidis que poseen características de los dos grupos antes mencionados. Son capaces de producir una enfermedad sistémica en pollos jóvenes, en ocasiones con una mortalidad considerable, pero también producen la forma mas severa de intoxicación alimentaria en el Hombre (27).

### 3. HISTORIA.

El primer germen representativo del grupo de las salmonellas fue aislado por Smith y Salmon en 1885 de cerdos enfermos de cólera porcino. El nombre general de Salmonella fue propuesto por Lignieres en 1900 en honor a Daniel E. Salmon. Quien trabajó en su descubrimiento sobre intoxicaciones alimentarias (8,31).

En 1889, En Inglaterra, Klein fue el primero en aislar la Salmonella gallinarum, en gallinas enfermas de salmonella llamándole Bacillus gallinarum, mas tarde sinónimos de esta enfermedad fueron : Leucemia infecciosa (Moore 1942) y tifoidea aviar (Curtice, 1942) (17,23). En 1900 Retter aisló una bacteria similar, Salmonella pullorum quien la describió como “Septicemia fatal de los pollitos”. Mas tarde la designó como “Diarrea blanca” (1909), y poco tiempo después se expandió el termino de “Diarrea blanca bacilar” para diferenciarlo de otras enfermedades de las aves que se pudieran clasificar bajo el nombre común de “diarrea blanca”(3,32,42).

En 1884, en Estados Unidos fue descrita por primera vez la infección denominada “infección paratifoidea” producida por mas de 100 especies y 1200 serotipos; en la mitad de los casos por S. Typhymurium y S. enteritidis (35,37).

### 4. IMPORTANCIA ECONOMICA.

Las reproductoras pesadas adultas normalmente no se afectan en forma clínica por la introducción de una infección por salmonella, aunque la S. pullorum puede causar bajas substanciales de la producción del huevo y morbilidad; el efecto económico mas perjudicial de la infección con otros serotipos de Salmonella en reproductoras es la posible diseminación a la incubadora y la progenie de pollitos de un día de edad. Ambas, Salmonella

pullorum y S. gallinarum pueden causar una alta mortalidad, una conversión de alimento pobre, menor crecimiento, menor rendimiento y descarte de canales debido a las lesiones por septicemia. Estos efectos negativos sobre el desempeño de los pollos de engorde normalmente no se observan con otros serotipos de Salmonella excepto la Salmonella enteritidis (especialmente el fagotipo 4) y ocasionalmente algunos fagotipos de S. typhimurium (27).

La infección con el fagotipo 4 de S. enteritidis transmitida verticalmente en pollos de engorde puede causar mortalidad, morbilidad e importantes pérdidas económicas de los descartes debido a la pericarditis, perihepatitis y septicemia (12).

Otro aspecto importante a tomar en cuenta es la diseminación de la enfermedad en humanos produciendo intoxicaciones alimenticias debido a la ingestión de carne de pollo y otros productos avícolas contaminados (6).

## 5. DISTRIBUCION.

La salmonelosis en general es una enfermedad de distribución mundial, aunque ha sido extensamente controlada en países tales como Estados Unidos, Inglaterra, Canadá, Suecia y otros más (3,6,11,17,27,31,34).

La tifoidea aviar en áreas avícolas del mundo donde no se están llevando a cabo programas de control y prevención, constituye una amenaza mucho mayor que la pulorosis (34).

En Centro América la enfermedad se ha diagnosticado únicamente por serología. No se a aislado Salmonella pullorum (3).

## 6. EPIDEMIOLOGIA.

Díaz Meléndez (1996), cita algunos trabajos de investigación sobre la prevalencia de Salmonelosis aviar en Guatemala de la siguiente manera:

Reyes Galdámez (1977), detectó en Rabinal Baja Verapaz que el comportamiento de Pullorosis en aves (Gallus gallus), es de mayor prevalencia en aves adultas que en pollitos, encontrando que el 75.35 % de reactores positivos a la prueba correspondía a hembras y determinando una prevalencia del 51% de reactores positivos a Salmonelosis (17).

Martín López (1978), investigando en el municipio de San Martín Jilotepeque, Chimaltenango la prevalencia de salmonelosis (Pullorosis), concluyó que de 480 pruebas efectuadas, 318 resultaron positivas a la prueba rápida en placa; equivalente al 65% del muestreo efectuado en dicha área (17).

Chavarria López (1979), concluyó que en el municipio de San Juan Comalapa, Chimaltenango; la Salmonelosis aviar es, sin duda una de las enfermedades de mas estragos a nivel domiciliario, con una prevalencia del 35% (11).

Yurrita Gastelun (1980), determinó que un 2.2% de las muestras de sueros sanguíneos de pollos sacrificados en tres rastros avícolas del Departamento de Guatemala, distribuidores de carne para el consumo humano, fueron reactores positivos a salmonelosis (43).

Orellana Salguero (1988), investigó 863 aves, en el municipio de San Juan Ostuncalco, Quetzaltenango, de las cuales el 38.2% fueron positivas; es decir, que 330 aves mostraron reacción positiva a la prueba rápida en placa y concluye que sí están siendo afectadas las aves de patio por Salmonellas (34).

Motta Rodríguez (1989), investigó 400 aves de patio (Gallus gallus) en el departamento de Sololá, que llegaron a los puestos de vacunación, de las cuales el 70% mostró una reacción positiva, con una prevalencia a nivel departamental que oscila entre 32 y 43% (32).

Avila Kristancic (1996), investigó 123 aves psitácidas, de cinco especies diferentes, en el municipio de Flores, Petén, obtuvo el resultado de 31.71% de aves positivas a la prueba de aglutinación rápida en placa, evidenciando la presencia de anticuerpos circulantes contra Salmonella sp. siendo la especie más afectada, el loro de cachete amarillo (Amazona autumnalis), con una prevalencia de 22.76%, de las muestras evaluadas, se concluyó que la causa principal de la presencia de Salmonella en dichas aves fué por el contacto previo con los humanos, debido a condiciones inadecuadas de alimentación, siendo esta a través de desperdicios de expendios de alimentos de origen animal y desechos de desperdicios de la población humana (3).

Díaz Meléndez (1996), investigó por medio de la prueba serológica de aglutinación rápida en placa, la detección de anticuerpos circulantes contra Salmonella sp. En los municipios de Amatitlan, Palín y Puerto de San José, sacrificados en una planta procesadora ubicada en la capital, con una prevalencia de 4.44% (17).

Gramajo (1980), investigó la presencia de Salmonella, Coliformes y otras enterobacterias en diferentes tipos de alimentos cárnicos de consumo humano, procedentes de establecimientos públicos y fabricas procesadoras de estos en la Ciudad de Guatemala, encontrándose una frecuencia de Salmonella en los alimentos estudiados del 7%; las especies de Salmonella aisladas fueron: Salmonella enteritidis, de serotipos S. newport, S. denver, S. london y S. tanleville (22).

Aragón Ortiz (1985), demostró que en establecimientos públicos y fabricas procesadoras de alimentos cárnicos de la ciudad capital de Guatemala, la piel de aves era un reservorio importante de Salmonella sp. con un 29% de muestras positivas de 100 muestras de piel de ave de corral evaluadas; porcentaje que es relativamente alto, demostrándose así la pobre calidad sanitaria en la industrialización de las aves (1).

Y más recientemente, Menchú Rosal (1996), evaluó 299 muestras de venta callejera, agrupando los alimentos evaluados en varios grupos, uno de los cuales era el que contenía productos carnicos de consumo, los que mostraron un 30% de contaminación, distribuidos de la siguiente manera: 48% provenientes de supermercados, 35% de rastros y 17% de mercados (28).

## 7. SUSCEPTIBILIDAD.

En el caso de la pulorosis, la susceptibilidad se manifiesta en gallinas (gallus gallus;) y pavos, aunque otras especies silvestres de aves contraen también la infección (3). En los pavos, los pavipollos de menos de 14 días tienden a padecer una alta mortalidad, mientras que, las Gallinas adultas poseen una mayor resistencia. En el caso de la tifoidea aviar, las gallinas especialmente las aves adultas jóvenes (12 semanas de edad o más) los patos, faisanes, pavo reales y gorriones son también infectados pero muestran mayor resistencia que las gallinas. La mayoría de los brotes se presentan en en aves en crecimiento, particularmente en pollos de tres meses y al momento de romper postura (3,17,37 ).

Explotaciones de tipo domiciliar infectadas por Salmonellas, se convierten en portadoras sanas, representado reservorios muy peligrosos de la enfermedad (34).

## 8. TRANSMISION.

Todos los tipos de salmonella colonizan el tracto gastrointestinal y se diseminan entre las aves a través de la ruta fecal oral. Siendo esta la vía de transmisión más frecuente, por la interrelacion de aves infectadas con aves sanas (4).

Los serotipos de salmonella tales como S. gallinarum, S. pullorum, S. enteritidis y S. tiphymurium presentan una afinidad por las aves y casi invariablemente son invasores. Estos serotipos pueden infectar el tracto reproductivo y se transmiten verticalmente al huevo.

Según McIlroy; el método más importante de diseminación en la industria moderna integrada de carne de pollo es la facultad del serotipo de Salmonella para mostrar infección transovárica verdadera y así una transmisión vertical efectiva (27).

Las aves adultas que padecieron la enfermedad y sobrevivieron a la infección quedan como portadoras y las salmonellas se alojan en el ovario. Estos serotipos también se pueden diseminar verticalmente por contaminación fecal del huevo, pero a un grado mucho menor y también pueden resultar en la contaminación de la incubadora y la progenie de los pollos (11).

Los huevos de reproductoras se pueden infectar por varias vías, dependiendo del serotipo, su agresividad y su adaptación al huésped, al menos se pueden identificar cuatro rutas: ovarios contaminados, oviducto contaminado, cloaca contaminada y medio ambiente contaminado (6).

El canibalismo es otra forma de transmisión, ya que las aves enfermas o muertas son picoteadas por aves sanas, diseminándose así la enfermedad (34).

Las aves de vuelo libre y aves de patio infectadas aparentemente sanas son una importante fuente de transmisión (17).

Frecuentemente los ingredientes para alimentos balanceados se contaminan con serotipos de Salmonella. La presencia de proteínas de origen animal, especialmente de aves como la harina de subproductos avícolas o la de pluma, en las plantas de alimentos balanceados, se ha relacionado a la contaminación del alimento terminado y ha resultado en una diseminación efectiva de los serotipos de salmonella tales como S. typhimurium, S. enteritidis, S. infantis, S. virchow y S. berta (17,27).

En 1997, estudios realizados por Holt, P.S.; et. al. demostraron que al contrario de los que se creía anteriormente la transmisión de Salmonella enteritidis puede surgir de forma aérea y la muda inducida puede proveer un estímulo para que ocurra (25).

En el mismo año Gast. R.K. mediante la realización de un estudio que verificaba la transmisión de salmonella a través del aire entre grupos de pollos alojados en unidades de aislamiento con ambiente controlado, notó que la infección por Salmonella enteritidis aparentemente fue transmitida principalmente por la ingestión oral, quizás a partir de las superficies ambientales contaminadas por el movimiento del patógeno a través del aire (20).

El hombre por lo general adquiere la infección por la ingestión de alimentos contaminados, manejo de aves en las explotaciones avícolas, y manipulación de aves en los rastros (4,7,22,28,40).

## 9. PERIODO DE INCUBACION.

El periodo de incubación varía de 3 a 5 días para los serotipos pullorum y gallinarum, aunque depende en gran parte de la concentración de la Salmonella, vía de penetración y estado nutricional (7,9,42).

## 10. SIGNOS CLINICOS

### 10.1. PULLOROSIS (DIARREA BLANCA BACILAR).

Pollitos y pavipollos.

La mortalidad empieza en pollos y pavipollos de 5 a 7 días de edad y llega al máximo en cuatro a 5 días. Se puede presentar una reducción de la incubabilidad en lotes de gallinas infectadas. Los pollos provenientes de huevos infectados, frecuentemente se encuentran muertos en el cascarón al décimo octavo o décimo noveno día de la incubación. Embriones contaminados por Salmonella mueren en la primera etapa de desarrollo.

Los pollos enfermos aparecen deprimidos y débiles, con alas caídas, se presenta además: anorexia, diarrea blanca pastosa adherida al área de la cloaca y aglomeración debajo de la fuente de calor (9, 42).

Los brotes de naturaleza crónica ocurren en explotaciones avícolas de pollos de engorde en los cuales los síntomas predominantes son cojera acompañada por una marcada inflamación de las articulaciones del tarso, emplume pobre y bajo desarrollo, además la Salmonella pullorum puede ocasionar ceguera por acumulo de exudado purulento en la cámara anterior del ojo, así como tortícolis por la localización de las salmonellas en articulaciones o en el oído medio (3,11).

Aves adultas.

En aves adultas se presenta en un curso crónico manifestado por: desmedro, alas caídas, plumaje en desorden, caquexia progresiva, palidez de la cresta y barbillas, deshidratación, sed, diarrea verde amarillenta, y baja de postura, pudiéndose en algunos casos no presentarse síntomas. (11, 34).

Aunque para otros autores como Bolaños J.M. el curso es agudo ya que los signos aparecen a los 5 a 8 días de ocurrido el contacto con el germen, y la mortalidad aparece a los 5 a 10 días después de la infección (8).

## 10.2. TIFOIDEA AVIAR.

En pollos jóvenes que provienen de embriones infectados pueden encontrarse muertos en las nacedoras, o moribundos mostrando somnolencia, signos respiratorios, crecimiento lento, apatía y adherencia de excremento con uratos en la cloaca (17, 34).

Ataca principalmente aves adultas, aunque puede presentarse a cualquier edad. Hay presencia de diarrea de color verde claro o amarillento, postración, somnolencia, apatía, palidez de la cresta y barbillas; las aves se mantienen separadas de la parvada y es común la sed intensa, probablemente por la fiebre elevada ( 11,23,32,42).

## 10.3. INFECCIONES PARATIFOIDEAS.

Según Piantino Ferreira las infecciones causadas por S. enteritidis y S. typhimurim no causan mortalidad significativa, pudiendo pasar desapercibidas en los lotes de aves, las aves jóvenes son mas susceptibles a la infección

pudiendo causar una mortalidad de 20%. Algunas presentan diarrea por algunos días y a veces semanas, sin comprometimiento general del ave, aunque algunos brotes se pueden presentar mas severos, principalmente cuando son asociados a otras enfermedades entéricas como la coccidiosis y enfermedades inmunosupresoras. Las reproductoras , las aves de postura comercial y pollos de engorde son susceptibles a la infección por salmonellas del grupo paratifoide sin la ocurrencia de mortalidad, y en tanto la diseminación para la progenie, huevos y la cáscara puede ser contaminados a través de las heces (35).

Brotos agudos se presentan en pollos de 7 a 21 días de edad, con mortalidad máxima entre los 7 a 10 días, esta mortalidad depende de la virulencia del patógeno, con síntomas similares a los de la pullorosis, tales como somnolencia indiferencia, debilidad, anorexia, sed intensa, diarrea, empastamiento de la cloaca y tumefacción de las articulaciones (37).

## 11. LESIONES

### 11.1. PULLOROSIS.

En brotes agudos pueden ocurrir muertes antes que se produzcan las lesiones, estas se observan como puntos necróticos en el corazón, hígado, pulmones y otros órganos, saco vitelino no absorbido, inflamación de las articulaciones de las alas y de las patas, ciegos distendidos con núcleo caseoso, diarrea blanca; ano con heces adheridas etc.

En las aves adultas, la lesión mas frecuente se localiza en el ovario, algunos óvulos están atrofiados, regresión del ovario, huevos verdosos y deformes, pericardítis, atrofia testicular y necrosis focal del hígado.

Avila Kristancic reportó que en las aves psitácidas, las lesiones incluyen; exudado caseoso de color amarillo verdoso, numerosas hemorragias petequiales en los intestinos, esplenomegalia y degeneración renal (3,17, 32,37,42).

## 11.2. TIFOIDEA AVIAR

Muestra a la necropsia: agrandamiento del hígado; esplenomegalia, distensión de la vesícula biliar, puntos necróticos en el hígado y otros órganos, regresión y alteración del color de los huevos, peritonitis, hemorragias puntiformes en los tejidos adiposo y muscular, enteritis e inflamación mucopurulenta del duodeno (17,42).

## 11.3. INFECCIONES PARATIFOIDEAS.

En los brotes agudos de los pollos pueden faltar las lesiones microscópicas, la artritis es común en las palomas (42). Septicemia, pérdida gradual de peso, deshidratación, retención del saco vitelino, enteritis, tiflitis, focos necróticos en diversos órganos, congestión de los vasos sanguíneos, hígado jaspeado y de color amarillo; mientras en las aves adultas solo muestran enteritis y diarrea (15, 27).

## 12. DIAGNOSTICO.

El diagnóstico definitivo se hace únicamente por medio del aislamiento e identificación de la Salmonella. El diagnóstico presuntivo se basa en la historia, síntomas y lesiones, el diagnóstico puede hacerse también con serología positiva de la bacteria causal por medio de: prueba de sangre en placa, prueba rápida en placa y prueba de aglutinación en tubo entre otras, siendo siempre necesario confirmarse con aislamiento (3, 29, 37).

### 12.1. Diagnóstico serológico.

Las reproductoras deben ser monitoriadas periódicamente para pulorosis y tifoidea aviar por medio de pruebas de seroaglutinación rápida con sangre completa y antígeno K polivalente, en las granjas, puede realizarse además tests de ELISA y seroaglutinación lenta en tubo o en placa.

### 12.2. Aislamiento.

Varias técnicas son utilizadas en el aislamiento y caracterización de las Salmonellas de diferentes fuentes, dependiendo del origen del material, (tomándose con una asa estéril muestras de órganos afectados como hígado, corazón, bazo, ovarios y raspado de intestino) utilizándose un medio de pre-enriquecimiento (agua peptonada al 1%, medio M-9 ó caldo lactosado, incubándose a 42° C. por 24 a 48 horas. Seguidamente se coloca en un medio de enriquecimiento (medio selenito, tetracionato y ácido nalidixico (30ug/ml) , Novobiocina (0.2%) ó en medio Rappaport- Vassiliadis e incubados a 37° C. por 24 horas. Seguidamente se siembra en placas de agar McConkey, agar Verde Brillante, agar Xilosa Lisina Desoxicolato, Agar Salmonella-Shigella u otros y se incuba a 37° C. por 24 horas. Las colonias con características de salmonella deben ser sometidas a tests bioquímicos entre ellos: Triple Sugar & Iron (TSI), producción de ácido y gas, L-triptofano, desaminasa, ureasa, utilización de Lisina, Citrato de Simmons, Indol, capacidad de motilidad y otros disponibles capaces de indicar el genero de Salmonella.

En seguida las muestras identificadas bioquímicamente como Salmonella sp. Deben ser sometidas a tests serológicos con antisueros polivalentes (anti “O” y “H”) y entonces enviados a los instituciones especializadas para la determinación del serotipo (26, 35,39).

Para identificarlas por especie se enfrentan con antisueros específicos. En agar TSI, Salmonella pullorum produce alcalinidad en el inclinado y acidez en el fondo, así como ennegrecimiento del medio por la producción de ácido sulfhídrico; después de 24 horas de incubación (3).

Los medios de cultivo recomendados para el aislamiento de Salmonellas son: Agar Verde brillante, Agar SS, Agar McConkey, Agar XLD, Agar sulfito de Bismuto, Desoxicolato Citrato (34).

<b>Comportamiento de <u>Salmonella pullorum</u> y <u>Salmonella gallinarum</u> en la fermentación de Carbohidratos.</b>		
<b>Carbohidrato</b>	<b><u>S. pullorum</u></b>	<b>S. Gallinarum</b>
Dextrosa	Fermenta con gas	Fermenta sin gas
Lactosa	No fermenta	No fermenta
Sacarosa	No fermenta	No fermenta
Manitol	Fermenta con gas	Fermenta sin gas
Maltosa	No fermenta	Fermenta sin gas
Dulcitol	No fermenta	Fermenta sin gas
Indol	No produce	No produce
Urea	No hidroliza	No hidroliza
Motilidad	No fermenta	No fermenta

Avila, E. C. , Illescas, J. M. , Motta, L. E (3, 32).

Tómese en cuenta que las muestras identificadas bioquímicamente como Salmonella sp. Deben de diferenciarse de las del grupo paratifoide en base a su motilidad ya que estas últimas son móviles (35).

#### 12.1.3. Prueba de aglutinación rápida en placa con sangre:

Se realiza en hembras y machos. En reproductoras livianas, se recomienda correrla a las diecisiete semanas y en semipesadas y pesadas desde las diecinueve y veinte semanas de edad.

Se toma una gota (0.02 ml ) de sangre de la vena axilar, en el mismo lugar de trabajo, utilizando una lanceta; se mezcla la sangre obtenida con 0.05 ml de antígeno coloreado “K” polivalente (S. pullorum y S. gallinarum), sobre una placa de vidrio.

Y la lectura final deberá hacerse a los dos minutos, Se interpreta que si hay aglutinación la prueba es positiva, mientras que si la mezcla permanece homogénea la prueba es negativa (3,17,32).

#### 12.1.4. Prueba de aglutinación rápida en placa.

Para esta prueba se utiliza el suero obtenido espontáneamente o por centrifugación, Se mezcla 0.05ml de antígeno coloreado “K” polivalente con 0.02 ml de suero, se mezcla y se lee a los dos minutos. La interpretación es igual que la prueba anterior.

#### 12.1.5. Prueba de aglutinación lenta en tubo:

Esta prueba es la más sensible para el diagnóstico de Salmonella y es un procedimiento adecuado para la investigación de casos aislados. Consiste en mezclar en un tubo antígeno específico para S. pullorum y S. gallinarum con cantidades decrecientes de suero. Luego se incuban a 37° C. por 24 horas. Si

hay formación de grumos la reacción es positiva, mientras si la mezcla permanece turbia , es decir con aspecto lácteo la reacción es negativa (3, 23, 32).

## 12.2 Test de PCR (Polymerase Chain Reaction)

El test de PCR ha sido implementado en varios segmentos de sanidad avícola con el objetivo de diagnosticar la presencia de salmonella en las diferentes etapas de producción y procesamiento de aves, como en heces, órganos y materias primas (35).

## 13. CONTROL Y PREVENCIÓN.

El método que ha probado ser el más eficiente para prevenir la contaminación con Salmonella es el de Control de los “Puntos críticos”, este método consiste en identificar los puntos de mayor riesgo, adoptar las medidas correspondientes y después monitorear continuamente su efectividad (6).

El Control de la salmonelosis puede ser realizado en diferentes maneras y etapas. Se debe en primera instancia introducir un monitoreo bacteriológico y serológico en la granja para introducir los métodos de control más apropiados y eficaces. Este control debe ser encaminado a:

- Manejo y bioseguridad de las instalaciones avícolas.
- Control del personal encargado del manejo de las aves evitándose los portadores de salmonelosis crónica.
- Control de roedores y pájaros.
- Control microbiológico de las aves muertas, de cama y materias primas principalmente de origen animal.
- Uso de vacunas vivas e inactivadas.

- Uso de acidificantes en la ración, como: el ácido propionico, fórmico, acético y otros.
- Uso de productos que contengan bacterias de exclusión competitiva (17, 30, 33).

### 13.1. Control a través de acidificantes.

Esto se logra a través de productos que que promuevan la acidificación de la ración, dándose esta en forma continua; Piantino Ferreira reporta en Brasil el uso de ácido fórmico, láctico propionico y acético (35). Estos ácidos tienen la función de eliminar las bacterias que forman parte de la microbiota de la ración impidiendo que estas actúen como eventuales agentes patogénicos. Los ácidos orgánicos actúan en el DNA bacteriano causando lesiones irreversibles en sus moléculas logrando con esto que la bacteria no pueda multiplicarse (35).

### 13.2. Control a través de vacunas.

Recientemente se ha introducido vacunas vivas e inactivadas para el control de la salmonelosis principalmente para el control de las infecciones causadas por las salmonellas del grupo paratifoide (6, 7). Un grupo de investigadores holandeses en la campaña de control de Salmonella enteritidis tipo 4 en su país, recomiendan el uso de vacunas inactivadas para el control de S. enteritidis y S. tiphymurium (21).

El uso de la vacuna viva de S. gallinarum 9R para el control de Tifoidea aviar es reportada como ampliamente utilizada en Brasil (30,35).

Mcllroy, S. G. determina que la eficacia de los programas de vacunación dependerán del nivel de desafío y control efectivo que se alcance por medio de la

combinación de la vacunación y reducción/ eliminación del desafío de la S. enteritidis (27).

### 13.3. Control a través de Exclusión Competitiva y Probióticos.

El cual consiste en la utilización de bacterias no patógenas de la flora normal, aisladas del ciego y heces de aves adultas administradas a aves jóvenes, ejerciendo protección contra la invasión de bacterias patógenas como las Salmonellas, y el uso de probióticos, los cuales han consistido en la utilización de varias bacterias como Lactobacillus, Enterococcus, Bifidobacteria, bacilos y levaduras (35).

McIlroy S.G. reportó como medida opcional de control de S. enteritidis, aprobado por la comisión de comunidades Europeas en 1992, un control diferente al de matanza de todas las aves rectoras positivas, el cual consiste en el tratamiento de las parvadas infectadas con Enrofloxacin durante 10 días, seguido de dos aplicaciones de un producto de Exclusión Competitiva a las 24 y 72 horas post tratamiento, permitiéndose únicamente el tratamiento a nivel de progenitores. La eficacia de este procedimiento se mide en base a ausencia de Salmonella enteritidis en la progenie de las parvadas tratadas (27).

## 14. TRATAMIENTO.

En General se decía que no había tratamiento pues cuando se aplicaba; solamente se lograba perpetuar la enfermedad, y lo más recomendable y económico era la eliminación de los lotes afectados (8,17,23,34,37).

Orellana Salguero (1988) mencionó que estudios realizados por Pacheco, G. y Esquibel, C. quienes evaluaron la resistencia bacteriana hacia ciertos antibióticos aplicados como tratamiento a aves infectadas con cepas de E. coli y Salmonella gallinarum; y comprobaron la actividad antimicrobiana y posible resistencia microbiana del cloranfenicol, Doxiciclina y Furaldatona.

Los resultados obtenidos mostraron que las cepas antes mencionadas mostraban una resistencia al cloranfenicol de 0% a la Doxiciclina de 0% y a la Fuaraldadona de 5%, en la máxima concentración probada (100 mcg/ml) Por lo que según estos autores el uso del cloranfenicol y la doxiciclina eran recomendados para el tratamiento(34).

Estudios mas recientes , han demostrado que la enrofloxacin al 10% posee una actividad antimicrobiana muy alta en dosis bajas y buena absorción en el tracto gastrointestinal, efectiva distribución en los tejidos, acumulo en los folículos de las yemas, alta concentración del principio activo, estabilidad del producto en las heces y ningún efecto sobre los anaerobios estrictos (21).

Hecho también demostrado en Brasil por Piantino Ferreira, quien determinó que el uso de Enrofloxacin 10 mg/kg. por 10 días en agua de beber reduce la población de Salmonella en los planteles infectados y mantienen las aves libres de la reinfeccion cuando se combina esta con un producto de Exclusión Competitiva (35).

Froyman, R. evaluó la evolución de sensibilidad de Salmonellas hacia la Enrofloxacin en una solución oral al 10%, durante 5 a 9 años en países europeos y concluyó que la susceptibilidad a la Enrofloxacin variaba entre 98.8 y 99.5% a lo largo de los años sin tendencia a decrecer (18).

## 15. IMPORTANCIA EN LA SALUD PUBLICA.

La preocupación por *Salmonella* en la avicultura se inició a mediados de la década de los 80 cuando *Salmonella enteritidis* fagotipo 4 hizo su aparición en Inglaterra, causando serios problemas en humanos, aunque la preocupación surgió muchos años antes, cuando fue reportado en Alemania el primer aislamiento de *Salmonella enteritidis* a partir de heces humanas en 1888 (27).

La Salmonelosis es una antropozoonosis de persistencia en el medio ambiente. Haciéndose de carácter obligatorio el reporte a las autoridades encargadas del control y sanidad animal de cada país (6,17,27).

Para 1991 *S. enteritidis* fagotipo 4 representaba el 53% de todos los aislamientos humanos, el cual según la Organización Mundial de la Salud (OMS) es el fagotipo más común en la Unión Europea, y el fagotipo 13 en Estados Unidos (12, 27).

Todos los casos de intoxicación alimenticia fueron relacionados con productos avícolas especialmente el huevo; Las manifestaciones clínicas más comunes en los humanos son: gastroenteritis aguda, con dolores abdominales súbitos, diarrea, náusea y vómito. La deshidratación puede ser grave especialmente en los lactantes y casi siempre va acompañada de fiebre. La anorexia y las heces líquidas persisten con frecuencia durante varios días (19).

La importancia de su control está encaminada a ubicar los puntos críticos de control, sobre todo en la industrialización de sus productos para consumo humano y así asegurar la calidad total en sus consumidores (31).

## 16. USO DE LA EXCLUSIÓN COMPETITIVA EN EL CONTROL DE LA SALMONELLOSIS.

### 16.1. HISTORIA.

El Concepto de Exclusión Competitiva (EC), fue sugerido por Nurmi y Rantala en 1973, cuando investigaban la rápida colonización de Salmonellas en pollitos recién nacidos y la incapacidad de estos en combatirlas (13, 41). Estos autores verificaron que la flora normal de las aves, administrada en los estados iniciales de la vida, como una Exclusión Competitiva prevenía la colonización por Salmonellas; poco después, mencionaron que la flora intestinal de gallinas adultas obtenidas en anaerobiosis presentaba un efecto similar. A partir de ese momento la industria avícola ha elaborado decenas de productos en base a ese concepto. (41)

### 16.2. DEFINICION.

Exclusión Competitiva (EC) es la incapacidad o inhabilidad de una población de microorganismos usualmente patógenos de establecerse en el intestino de las aves, debido a la presencia de otra población considerada como microflora normal (16).

Bajo condiciones naturales, los pollitos obtienen su microflora natural de la madre a través del huevo y del medio ambiente. Esta microflora empieza a establecerse en el interior del pollito en las primeras horas después del nacimiento, por esta vía los pollos jóvenes desarrollan rápidamente una microflora intestinal normal, lo cual forma una barrera esencial defensiva, previniendo el establecimiento y desarrollo de bacterias perjudiciales tales como la Salmonella sp., E. coli y otras bacterias enteropatógenas (35).

Snoeyenbos, G.H. menciona que pavos jóvenes pueden ser protegidos por material de pavos adultos (38). Hecho confirmado por Barnum, D.A (5).

Reid en 1983; comprobó que gallinas y pavos son capaces de protegerse unos a otros (13).

Los productos de Exclusión Competitiva actúan de forma óptima cuando son administrados lo más precozmente posible (al día de nacidos) a través de varias vías de aplicación tales como: agua de bebida o por medio de una cámara de nebulización en la incubadora. Day, C. mencionó que la utilización de Exclusión Competitiva también es efectiva para mantener una microflora intestinal protectora cuando se sabe que aves adultas pueden sufrir una colonización o recolonización por *Salmonella* en casos de stress, por ejemplo, el causado por movilizaciones de actividad en el pico de postura (13).

Algunos autores como Dexel. R. y McIlroy, S.G. recomendaron también el uso de Exclusión Competitiva combinado a una terapia antibiótica con Enrofloxacin para el control de *Salmonella sp* (16,27).

### 16.3. OBTENCION DEL MATERIAL PROTECTOR.

La obtención del material protector se logra a través de varias fuentes tales como:

a). Obtención de material protector a través de aves adultas normales que han sido criadas en un ambiente de terreno normal y han a si mismo sido expuestas al desafío natural por las bacterias.

b). Utilización de aves de lotes libres de patógenos específicos (SPF); mantenidas en condiciones especialmente controladas y protegidas bajo monitoreos constantes para garantizar la continuidad de la ausencia de patógenos durante la cría.

c). Producción de cultivos de Exclusión Competitiva definidos. Conteniendo especies bacterianas individualmente aisladas y cultivadas.

#### 16.4. MECANISMOS DE ACCION.

En términos de control enteropatogénico, los mecanismos de acción y de eficacia son muchos y variados.

The Microbial Developments Ltd. De Inglaterra postuló por lo menos cinco niveles de control enteropatogénico.

##### 16.4.1. Químicos.

A través de la reducción del pH resultante de la producción de ácidos orgánicos de determinados grupos de bacterias; así como la capacidad de ciertos grupos bacterianos de adherirse a la pared intestinal a través de una red de fimbrias y fibrillas que bloquean los sitios de unión química utilizados por ciertos enteropatógenos (13,16).

##### 16.4.2. Biológicos.

Debido al crecimiento y desenvolvimiento diferenciado de las bacterias, las cuales crean un ambiente de exclusión, mas permanente, confiriéndoles una identidad estructural de la composición bacteriana en el epitelio intestinal debido a sus propiedades hidrofobicas e hidrofílicas. Es decir, la

creación de un ambiente bajo en oxígeno producido por las bacterias naturales, que es desfavorable para patógenos como Salmonella (13,16).

#### 16.4.3. Físicos.

La flora bacteriana de productos de Exclusión Competitiva crean un sistema homogéneo con integridad espacial, en poco tiempo se crea una barrera física de consistencia adecuada impidiendo que los patógenos intestinales encuentren un nicho para crecimiento y reproducción (13,16).

#### 16.4.5. Bioquímicos.

Muchos organismos intestinales normales tales como Lactobacillus sp. y Escherichia coli, producen sustancias inhibitorias, tales como las “Bacteriocinas”, que presentan características antimicrobianas. Así como las sustancias químicas activadoras llamadas “Gamasero lactonas” que pueden desactivar los mecanismos que resultan de la división celular (13,16).

#### 16.4.6. Nutricional.

A través de la competencia de la flora intestinal normal contra patógenos por aminoácidos esenciales y azúcares (13,16).

## 16.5. EXIGENCIAS DE UN PRODUCTO EFICAZ.

Day, C. mencionó que los factores que pueden afectar la eficacia de Exclusión Competitiva incluyen:

- a) La fuente de cultivo de Exclusión Competitiva.
  - b) Las condiciones del cultivo
  - c) El cultivo mínimo de protección
  - d) El almacenamiento del cultivo de Exclusión Competitiva.
  - e) Los métodos de tratamiento y administración.
- (13).

- a) La fuente de Exclusión Competitiva.

La fuente de Exclusión Competitiva-gallinas adultas libres de enfermedades (SPF); es la mas comúnmente utilizada ,el cual puede incluir material cecal y fecal. Day, C. reportó que estudios realizados sobre la edad de las aves donadoras pueden presentar un efecto sobre la eficacia, además, reportó que la microflora donadora completamente protectora se pudo establecer dentro de 6 a 8 horas en un pollito de un día, tratado con un cultivo de Exclusión Competitiva (13).

- b). Las condiciones del cultivo.

La anaerobiosis es la llave para el acceso de un cultivo de un producto de Exclusión Competitiva eficaz, ya que las bacterias anaeróbicas estrictas y facultativas son esenciales para la completa protección del ave (13).

c) El mínimo de cultivo para la protección.

Una cantidad tan pequeña como  $10^{-7}$  y  $10^{-5}$  gramos de materia fecal administrado en pollitos de un día proporciona buena protección contra la colonización por Salmonella, mientras que una dosis de  $10^{-5}$  y  $10^{-10}$  no proporcionan buena protección. Se debe observar que estas dosis están evaluadas a nivel de laboratorio, administradas directamente a las aves, por lo que una dosis 1000 o 10000 veces mas alta es necesaria a nivel de campo (13).

d) Almacenamiento del cultivo de Exclusión Competitiva.

Esto es esencial para el mantenimiento de propiedades protectoras, entre los métodos de almacenamiento se cuenta con: subcultivo liquido seriado, congelamiento y liofilizacion (13).

e) Métodos para tratamiento y administración.

Tales como la administración directa dentro del buche del ave, adición en el agua de beber, la aplicación por pulverización ambiental sobre los pollitos y sobre los huevos de la incubadora, en pollitos de un día en galpones de cría.

Microbial Developments Ltd. De Inglaterra, mediante un experimento en 6 galpones conteniendo 25000 aves cada uno, demostró la eficacia de la capacidad de reducción de la colonización por Salmonella a través de un producto de Exclusión competitiva (Aviguard<sup>®</sup>, Bayer<sup>®</sup> Alemania.), cuando era aplicado en pollitos de un día de nacidos por vía aerosol y agua de beber, obteniendo el siguiente resultado 5.5% de aves positivas a Salmonella en aves tratadas con Exclusión Competitiva vía agua de beber y 0% de aves positivas en aves tratadas por pulverización (2).

Estudios realizados por Guillot, J. F. et al.; Deruyttere, L. et al.; Froyman, R. et al.; y Primm, N.D et al. Obtuvieron resultados similares en pollos de engorde y pavipollos. ( 14,17,24,36).

#### 16.5.1. Control de calidad y elaboración de Pruebas de eficacia.

Pivnick, et. al. En 1985 propusieron los términos de “Factor de Infección” y “Factor de Protección” para cuantificar la proporción de heces que se tornan eliminadoras de la Salmonella y las cantidades que están eliminando.

Se define “Factor de Infección” a la medida geométrica del numero de Salmonellas por gramo de contenido cecal de todas las aves de un determinado grupo de tratamiento, examinado después del desafío. Los valores del “Factor de Protección” se obtienen por la división del factor de infección de las aves no tratadas dentro del factor de infección del grupo tratado. Cuanto mayor es el factor de protección mas efectivo es el tratamiento contra un desafío dado.

Day. C. reportó estudios realizados por Pivnick, et. al. En los cuales comprobaron que preparados de Exclusión Competitiva con un factor de protección  $< 4$ , tienen poco chance en reducir la infección por salmonella sobre condiciones de campo.

La mayoría de los cultivos de Exclusión Competitiva presentan un valor de factor de protección en el intervalo de 4.8 a 17.5. Sugiriéndose que un cultivo de Exclusión Competitiva debe ser capaz de conferir protección  $> 4$ . En base a un standard establecido frente a un desafío, ante una cepa específica resistente al ácido nalidixico de Salmonella kedougou (NCTC 12173) (13,16).

## 16.6. COMPATIBILIDAD CON OTROS MEDICAMENTOS.

Aunque existen reportes que soportan el uso de antibióticos en aves tratadas con microflora de Exclusión Competitiva, debe de tenerse presente que el mal uso de antibióticos para el control terapéutico de entidades infecciosas puede ser contraproducente ya que podría eliminar la flora bacteriana ya existente junto con la eliminación del agente invasor. Puede haber cierta alteración con antibióticos tales como: Tilosina, Tiamulina, Licomicina/espectinomicina y penicilinas. Por lo que, se han hecho varias investigaciones de tratamientos combinados para uso profiláctico en Salmonellosis.

La mayoría de los productos de Exclusión Competitiva son compatibles con promotores de crecimiento y anticoccidiales

Existe buena compatibilidad con: Enrofloxacina, Clortetraciclina, Oxitetraciclina, Cloranfenicol, Furazolidona, Bacitracina de Zinc, Virginiamicina, Avotan, Nicarbacina, Avilamicina, Apramicin, Neomicina, Acido Oxolínico, flumequina, Monesina, Salinomicina, y otros productos.

Por lo tanto pareciera que la combinación de aditivos alimentarios antibióticos y productos de Exclusión Competitiva es antagónica, pero investigaciones reportadas por Nurmi y Rantala demostraron lo contrario, particularmente los antibióticos en bajas dosis comúnmente utilizados en aditivos alimenticios (15 a 25 ppm) (13, 16).

## V. MATERIALES Y METODOS.

### 1. MATERIALES.

#### **Recursos humanos.**

- 1) Médicos Veterinarios asesores (Departamento de Patología aviar, F.M.V.Z. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- 2) Médico Veterinario asesor (Departamento de Sanidad Animal, Bayer® de Centro América).
- 3) Médico Veterinario asesor (Departamento de Salud Pública, F.M.V.Z. Universidad de San Carlos de Guatemala).
- 4) Colaboradores del Departamento de Patología aviar, F.M.V.Z. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- 5) Investigador (estudiante).

#### **Recursos Biológicos.**

- 1) Antígeno de Salmonella "K" polivalente (Solvay Animal Health Inc. E.U.A).
- 2) Sueros de los pollos de engorde
- 3) Sueros control positivo y control negativo para Salmonella sp.
- 4) Cepa desafiante: Salmonella enteritidis.
- 5) 45 pollos de engorde de 1 día de nacidos.**
- 6) Flora intestinal normal de aves: Aviguard® (Bayer® Alemania).

## **Recursos de laboratorio**

- 1) Erlenmeyer
- 2) Placas de Petri
- 3) Tubos de ensayo con tapón de rosca.
- 4) Placas de vidrio para prueba rápida en placa, con divisiones de 3 por 3 cm.
- 5) Palillos de madera
- 6) Autoclave
- 7) Incubadora a 37° C. y 42° C.
- 8) Horno de esterilización
- 9) Asa bacteriológica
- 10) Mechero
- 11) Pipetas
- 12) Jeringas estériles desechables de 3 ml. con aguja # 23.
- 13) Algodón
- 14) Gradillas
- 15) Viales estériles de boca ancha.
- 16) Pinzas de disección
- 17) Tijeras
- 18) Estufa con agitador magnético
- 19) Criadoras para pollos con lampara de luz infra roja.
- 20) Guantes de látex
- 21) Hielo
- 22) Botas de hule
- 23) Mascarillas desechables y gorros de tela.
- 24) Alcohol.
- 25) Refrigerador
- 26) Solución salina estéril a 0.1%.
- 27) Agua Peptonada bufferada (Merck Co. Inc. Alemania)
- 28) Caldo Tetrionato "Tetrathionate Broth Base", (Scott laboratories Inc. Carson, CA.)

29) Agar Rambach® (Merck Co. Inc. Alemania).

30) Caldo BHI “ Rain Heart infusion Broth” (Scott Laboratories Inc. Carson. CA.).

32) Agar Salmocyst, caldo base y suplemento (Merck Co. Inc. Alemania).

33) Agua destilada estéril.

34) API 20E ( Bio Mériex Co. Inc. Francia).

### **Materiales diversos:**

1) Gastos de Transporte.

2) Concentrado iniciación para pollos de engorde Aliansa® Guatemala C.A.

## **1. METODOS.**

### **Descripción del área de estudio:**

El estudio se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Ornitopatología y Avicultura de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, bajo un ambiente controlado.

### **Metodología**

Veinticuatro de treinta pollitos de engorde de un día\*\* fueron aleatoriamente distribuidos en dos grupos de 12 aves. Cada grupo de aves fue colocado en una jaula de cría separada, con un suministro de agua y concentrado de iniciación para pollo de engorde ad libitum (ración de acuerdo a la recomendada por Alimentos para animales S.A, Aliansa®. La temperatura ambiente fue mantenida dentro del intervalo de 22 a 24° C. y cada grupo tuvo acceso a una lámpara de luz infraroja, proporcionando una temperatura de choque de aproximadamente 32° C.

El resto de los pollitos adquiridos para el experimento igual al lote madre reproductora (6 pollitos), se utilizaron como verificación a través de la prueba rápida en placa, para garantizar que los mismos no poseían anticuerpos específicos contra Salmonella, antes de iniciar el desafío (anexo 1). Para esto se obtuvo una muestra de sangre, directa del corazón.

\*\* ( Por razones de logística de la empresa distribuidora de los pollitos se trabajo con 30 pollos en vez de 45 como previamente se había establecido).

Los siguientes tratamientos fueron administrados:

Grupo 1. **(Grupo tratado sin Exclusión Competitiva)** las aves fueron individualmente tratadas 24 horas después de la recepción con 0.5 ml de agua destilada estéril al que posteriormente se les administró una dosis de Salmonella de  $1 \times 10^4$  UFC/ml, determinada por medio del uso del Nefelómetro de McFarland, este consiste en un set de 10 tubos que contienen diferentes concentraciones de Cloruro de Bario y ácido sulfúrico; el cloruro de Bario en presencia del ácido sulfúrico precipita finamente, por lo que cada tubo al agitarse tendrá una turbidez diferente. Cada tubo se relaciona con una densidad celular aproximada, esperándose con esto la colonización de por lo menos el 50% de las aves.

Grupo 2 **(Grupo tratado con Exclusión Competitiva)**, las aves fueron tratadas con Exclusión Competitiva: Aviguard® (Bayer®, Alemania), a una dosis normal después de la dilución del producto en agua destilada estéril; conforme a las instrucciones del fabricante para administrarse a cada ave 0.0125 g. de organismos de Exclusión Competitiva/dosis. Obteniéndose esta proporcionalmente a la cantidad de pollos a tratar de una solución madre obtenida de la mezcla de 2000 dosis en 200ml de agua. Este producto se administró a las aves por vía oral utilizándose una pipeta plástica estéril, inmediatamente después de la recepción

de las mismas (2 horas después), posteriormente se desafió este grupo con una dosis de Salmonella, como se menciona a continuación:

### **Administración del organismo de desafío:**

24 horas más tarde, las aves del grupo 2 fueron desafiadas con una cepa de Salmonella enteritidis, en el nivel de desafío de orden de  $1 \times 10^4$  organismos por ave. El organismo se cultivó en caldo BHI, incubado a 37° C. por 24 horas, verificándose la pureza y haciendo un subcultivo bajo las mismas condiciones, siendo esta diluida para su uso en la administración de las aves, permitiéndose que bebiesen los pollitos por medio de una pipeta plástica estéril 0.5 ml de una dilución aproximada de  $1 \times 10^4$  UFC/ml.

### **Toma de las muestras:**

Las aves de los grupos 1 y 2 fueron evaluadas serológicamente el día 12 previo a su sacrificio, utilizándose la Prueba Rápida en Placa, para anticuerpos circulantes contra Salmonella sp. de la siguiente manera: se tomó una gota de sangre y 0.03 ml de antígeno K polivalente coloreado (Salsbury Laboratories Inc. U.S.A.), se homogenizó y se realizó la lectura a los dos minutos, determinando la positividad por la presencia de grumos color violeta.

Las aves fueron examinadas 12 días después del desafío tomando en cuenta que es el tiempo de mayor eliminación de salmonellas por las aves y con el objeto de determinar tanto la positividad de los grupos test y control, y la colonización por Salmonella de los individuos afectados por medio del aislamiento, utilizando para esto un medio de crecimiento selectivo diferencial para Salmonella: Salmocyst® (Merck Co. Inc. Alemania).

Las aves fueron sacrificadas por dislocación cervical, y se removieron de manera aséptica: los ciegos y contenidos cecales, al mismo tiempo se preparó un medio no selectivo de pre enriquecimiento (Salmosyst® Merk Co. Inc). De la siguiente manera: Se disolvieron 5.6 gr. de Salmosyst® base en 225 ml de agua desmineralizada, colocándola en autoclave a 121° C/15min. Al que se le agregó 25 gramos del material de la muestra, el que se colocó en un frasco estéril o Erlenmeyer para incubarse a 35° C/6-8 horas, seguidamente se tomó 10 ml de el cultivo incubado de pre- enriquecimiento y se transfirió a un tubo de cultivo estéril.(1 tubo por cada tres aves evaluadas). Se le adicionó una tableta de suplemento selectivo de Salmocyst® y se esperó 30 minutos, para luego mezclarse vigorosamente, entonces se procedió a incubar a 35° C/ 18 –22 horas.

Posteriormente se preparó una dilución conteniendo 05 ml de muestra de caldo Salmocyst® de cada ave. Se prepararon 5 tubos de ensayo para cada grupo conteniendo 9 ml de agua destilada estéril, realizándose pases de un tubo a otro y así obtener diluciones que iban de  $10^{-1}$  hasta  $10^{-5}$  . eligiéndose para fines del experimento una de mayor concentración ( $10^{-2}$  ) a una de menor concentración ( $10^{-5}$ ) para obtener 2 grupos representativos del grupo tratado con Exclusión Competitiva y sin Exclusión Competitiva,

Se tomó seguidamente 0.1 ml del inóculo de cada dilución y se transfirió a placas conteniendo agar Rambach® para su incubación a 35° C/18-48 horas. Se contaron como sospechosas a Salmonella las colonias típicas color rojo cereza. Seguidamente se corrió la prueba de API 20E (Bio Mérieux Co. Inc, Francia) a 37° C. por 24 horas, para su confirmación.

Los resultados de la serología y de crecimiento bacteriano se asignaron en la boleta respectiva: ( Anexo 1 , Anexo 2 ).

## VI. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente estudio de tesis pueden referirse de la siguiente manera:

En general las aves manifestaron buen salud durante el estudio con ausencia de mortalidad en ambos grupos.

Los resultados del examen serológico mediante la Prueba Rápida en Placa al día de nacidos para la detección de anticuerpos circulantes contra *Salmonella* spp, fueron negativos, determinándose así que las aves provenían libres de una infección por *Salmonella* al momento de iniciar el experimento.

En cuanto al examen macroscópico en las necropsias realizadas, se observó que el grupo tratado sin Exclusión Competitiva padeció de una tiflitis marcada afectando el 75% de las aves desafiadas, así como una leve diarrea color amarillenta. Mientras que el grupo tratado con Exclusión Competitiva los ciegos y su contenido se observaban de consistencia normal, lo cual coincide con la literatura consultada la cual menciona la eliminación de *Salmonellas* por las aves sin presencia de mortalidad.

Los resultados del examen microbiológico de los contenidos cecales de los grupos tratados sin Exclusión Competitiva y con Exclusión Competitiva (Anexo 3, tabla 1) mostraron una diferencia notoria en cuanto al crecimiento de *Salmonellas* tomándose para la interpretación y conteo de las bacterias diluciones de una mayor concentración a una menor concentración ( $10^{-2}$  a  $10^{-5}$ ), del medio de cultivo de las aves evaluadas y sembrada en un medio selectivo diferencial, dicha diferencia representó un alto nivel de infección en el grupo tratado sin Exclusión Competitiva siendo este de  $1.8 \times 10^6$  ufc/ml a una dilución  $10^{-2}$  y de  $1.5 \times 10^8$  ufc/ml, a una dilución  $10^{-5}$ , en contraste a los ciegos de los grupos tratados con Exclusión Competitiva los cuales mostraron un crecimiento de  $1 \times 10^5$  a una

dilución  $10^{-2}$  y ausencia total de crecimiento de Salmonellas a una dilución  $10^{-5}$  (tabla 1). Esto nos indica una reducción de colonización por Salmonella enteritidis de 92% a una dilución  $10^{-2}$  y del 100% a una dilución  $10^{-5}$  entre el grupo tratado con Exclusión Competitiva y el grupo tratado sin Exclusión Competitiva (Anexo 3, tabla 2 y Anexo 4).

Por la naturaleza del procedimiento de laboratorio y de los datos del presente estudio no fue posible realizar la prueba de hipótesis.

Los resultados obtenidos de la prueba API 20E®, confirmaron como positivo el crecimiento de Salmonella enteritidis.

Los resultados del presente estudio concuerdan a los resultados propuestos por Pivnick y colaboradores los cuales mencionan una disminución marcada en el crecimiento bacteriano del grupo tratado con Exclusión Competitiva, siendo según estos investigadores una reducción del 99% al décimo día post infección (13).

Así como a las investigaciones de Guillot J.F. (24) y Deruyttere. L (14) quienes evaluaron la eficacia de un producto de Exclusión Competitiva (Aviguard® Bayer® Alemania), frente a un desafío controlado con Salmonella enteritidis mencionados en el presente trabajo de tesis.

Los ciegos intestinales obtenidos al 12vo. día después del desafío con Salmonella enteritidis confirmaron que el desafío fue exitoso debido a la colonización de dichos tractos en ambos grupos, observándose en el grupo tratado con Exclusión Competitiva un claro y marcado efecto protector.

## VII. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente estudio puede concluirse en lo siguiente:

1. La reducción de colonización por Salmonella enteritidis, en pollos de engorde a través de la Exclusión Competitiva es efectiva
2. La aplicación preventiva de microflora aviar (Exclusión Competitiva) en pollitos al día de nacidos puede contribuir grandemente a la disminución de colonización por Salmonella enteritidis.
3. La Exclusión Competitiva no presenta ningún efecto adverso sobre los pollos tratados.
4. La Exclusión Competitiva contribuye al control y calidad alimenticia para el ser humano, ya que proporciona un claro y marcado efecto reductor de colonización por Salmonella enteritidis siendo esta una de las zoonosis más importantes desde el punto de vista de Salud Pública.

## VIII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda el uso de un producto que contenga Exclusión Competitiva de manera preventiva para reducir la colonización por Salmonella enteritidis en aves.
2. Realizar investigaciones futuras sobre el mejoramiento del control y Tratamiento de Salmonelosis, así como su efecto económico sobre la Industria avícola.
3. Se recomienda el asesoramiento y financiamiento por medio de la iniciativa privada, organismos gubernamentales y entidades educativas al estudio e investigación de enfermedades que afecten la calidad alimenticia y la salud del ser humano.

## IX. RESUMEN

El presente estudio fue realizado en las instalaciones del laboratorio de ornitopatología y avicultura de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, bajo un ambiente controlado.

El objetivo del mismo fue determinar la eficacia de la Exclusión Competitiva en la reducción de colonización por Salmonella enteritidis mediante un desafío controlado en pollitos de engorde de 1 día de nacidos.

Se colocaron dos grupos de aves aleatoriamente distribuidas en jaulas de cría separadas bajo una temperatura ambiente y alimentación adecuada clasificándose como: aves tratadas sin Exclusión Competitiva (Grupo 1) y aves tratadas con Exclusión Competitiva (Grupo 2).

Dos horas después del ingreso, las aves del Grupo 2 fueron tratadas por vía oral con un producto que contenía Exclusión Competitiva (Aviguard® Bayer® Alemania). Para que 24 horas más tarde los grupos 1 y 2 fueran desafiadas por vía oral con una cepa previamente tipificada de Salmonella enteritidis.

Se observó el curso de eliminación de Salmonellas por un periodo de 12 días, y se efectuaron las necropsias respectivas para realizar estudios microbiológicos de los contenidos cecales por medio de un aislamiento bacteriológico en un medio selectivo diferencial (Salmocyst® Merck® Alemania)

Al obtener los resultados microbiológicos se comprobó una reducción sustancial de colonización por Salmonella en el tracto digestivo de las aves tratadas con Exclusión Competitiva en comparación con las aves tratadas sin Exclusión Competitiva, siendo esta reducción mayor a un 92%, lo cual confirma ensayos probados en otros países en cuanto a la eficacia de la prevención de Salmonelosis mediante la utilización de microflora aviar.

## **X. ANEXOS**

ANEXO 1

**DETERMINACION DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA  
SALMONELLA SP.**

FECHA: \_\_\_\_\_  
No. De Registro \_\_\_\_\_  
Laboratorio \_\_\_\_\_

PRUEBA RAPIDA EN PLACA NUMERO DE POLLITO	POSITIVO	NEGATIVO
1		
2		
3		
4		
5		
6		
TOTAL		

**OBSERVACIONES.**

---

---

---

---

---

---

## ANEXO 2

### CRECIMIENTO DE COLONIAS TIPICAS A SALMONELLA SP. DEL GRUPO TRATADO SIN EXCLUSION COMPETITIVA

# DE PLACA \ DILUCION	$10^{-2}$	$10^{-5}$
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

#### OBSERVACIONES

---

---

---

### CRECIMIENTO DE COLONIAS TIPICAS A SALMONELLA SP. DEL GRUPO TRATADO CON EXCLUSION COMPETITIVA

# DE PLACA \ DILUCION	$10^{-2}$	$10^{-5}$
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

#### OBSERVACIONES

---

---

**ANEXO 3  
TABLAS DE DATOS**

**TABLA 1**

CONTEO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA/ML EN LOS GRUPOS TRATADOS CON EXCLUSION COMPETITIVA Y SIN EXCLUSION COMPETITIVA, LABORATORIO DE ORNITOPATOLOGIA Y AVICULTURA, FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
ABRIL DEL 2000.**

GRUPO	DILUCION		$10^{-2}$	$10^{-5}$
	Grupo tratado sin Exclusion Competitiva			$1.8 \times 10^6$
Grupo tratado sin Exclusion Competitiva			$1.5 \times 10^5$	No crecimiento bacteriano

\* Calculo de UFC/ml de acuerdo al Método recomendado por Anon (1982), Departments of the Environment Health Social Security and Public Health Laboratory Service. The Bacteriological examination of drinking water supplies. Report No. 71 HMSO. London.

**TABLA 2**

PORCENTAJE DE REDUCCION DE COLONIZACION POR Salmonella enteritidis ENTRE EL GRUPO TRATADO SIN EXCLUSION COMPETITIVA Y EL GRUPO TRATADO CON EXCLUSION COMPETITIVA. LABORATORIO DE ORNITOPATOLOGIA Y AVICULTURA. FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
ABRIL DEL 2000.**

Grupo tratado con Exclusion Competitiva	Porcentaje de Reducción
$10^{-2}$	92%
$10^{-5}$	100%

## XI. BIBLIOGRAFIA.

1. ARAGON ORTIZ, N.P. 1985. Determinación de Salmonella en piel de aves. Tesis Quim. Biol. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. p. 1,19,34-36.
2. AVALIACAO DA capacidade de reducao da colonizao por Salmonella de aviguard quando aplicado a pintos de um dia de aves corte por pulverizacao e via agua de beber. 1991. Inglaterra, Bayer. s.p.
3. AVILA KRISTANCIC, E.C. 1996. Prevalencia de mycoplasmosis y salmonelosis en aves psitasidas nativas, en la asociación de rescate y conservación de vida silvestre (ARCAS), en el municipio de Flores, Departamento de el Peten. Tesis Med. Vet. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 5-40.
4. BAINS, B.S. 1979. A manual poultry diseases. Suiza, Roche. p. 64-71.
5. BARNUM, D.A. et al. 1981. The aplication of Competive Exclusion in the prevention of Salmonella colonisation in the Turkeys. In. 8<sup>th</sup>. International Symposium of the World Assosiation of Veterinary food Higienists. ed. por J.D. Collins & J. Hannan. ETA Publishers, Dublin. p. 99-103.

6. BAXTER- JONES, J.C. 1996. Control de la Salmonella. Avicultura profesional: Sanidad avicola. (USA). 14(1):18-19.
7. BENENSON, A.S. 1978. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. Washington, OPS. p. 293-296.
8. BOLAÑOS SANTIAGO, J.M. 1979. Estudio de la virulencia de Salmonella gallinarum en pollo variedad pesada. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 2-9.
9. CALVIN, W.S. 1968. Medicina veterinaria y salud pública. México, A.I.D. p. 354,405.
10. CAMERON, D.N.; CARTER, J.N.; MANSELL, P. s.f. Avalacao de aviguard contra um modelo de infeccao con Salmonella enteritidis em frangos de corte. Inglaterra, Huntinggton. Life sciences. Bayer. s. p. (Experimento 10).
11. CHAVARRIA LOPEZ J.A. 1979. Prevalencia de anticuerpos contra salmonelosis en aves del municipio de San Juan Comalapa, Chimaltenango. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 2-11.
12. DAVIES, R.H. et al. 1997. Bacteriological and serological investigation of persistent Salmonella enteritidis infection in an integrated poultry organisation. Veterinary Microbiology. (USA). 58:277-293.

13. DAY, C.A. s.f. Exclusao competitiva na avicultura- Uma Revisao. Inglaterra, Microbial Developements ltd. Bayer. s.p.
14. DERUYTTERE, L. et al. 1997. Field study to demonstrate the efficacy of Aviguard against intestinal Salmonella colonization in broilers. In International Symposium Salmonella and Salmonellosis. Francia, Bayer. p. 7-10.
15. DESMIDT, M.; DUCATELLE, R.; HAESEBROUCK, F. 1997. Pathogenesis of Salmonella enteritidis phage type four after experimental infection of young chickens. Veterinary Microbiology. (USA). 56:99-109.
16. DEXEL, R. s.f. Aviguard: Microflora aviar. Guatemala, Bayer. s.p.
17. DIAZ MELENDEZ, M.R. 1996. Determinación de reactores positivos a Salmonella sp. Mediante la prueba de aglutinación rápida en placa en pollos (Gallus gallus), de engorde en un rastro ubicado en la ciudad Capital, durante el primer semestre del año 1996. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 4-27.
18. FROYMAN, R. et al. 1997. Enrofloxacin sensivity monitoring of avian Salmonella in the European Union. In International Symposium Salmonella and Salmonellosis. Francia, Bayer. p. 29-31.

19. -----, et al. 1997. Epidemiology of paratyphoid Salmonella in a large broiler integration and the impact of the application of a normal gut flora at day old. In International Symposium Salmonella and Salmonellosis. Francia, Bayer. p. 11-14.
20. GAST, R.K. et al. 1998. Airborne transmission of Salmonella typhimurium challenge models in chickens. Avian Diseases. (USA). 42:257-264.
21. GOREN, S.F. s.f. Experiencias con control de S. enteritidis na Holanda de 1989 - 1995. Holanda, Poultry Health Center. Bayer. s.p.
22. GRAMAJO, V.A. 1980. Aislamiento de Salmonella y otras enterobacterias en productos carnicos. Tesis Quim. Biol. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad Ciencias Químicas y Farmacia. p. 1-30.
23. GUILLEN ARANGO, R.E. 1982. Determinación serológica y aislamiento de Salmonella sp. en aves (Gallus gallus), de algunas granjas avícolas de Guatemala. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 3-5.
24. GUILLOT, J.F. et al. 1997. Effect of a gut microflora (Aviguard) against controlled Salmonella enteritidis contamination in chickens. In International Symposium Salmonella and Salmonellosis. Francia, Bayer. p. 5-6.

25. HOLT, P.S.; MITCHELL, B.W.; GAST, R.K. 1998.  
Airborne horizontal transmission of Salmonella enteritidis in Molted laying chickens. Avian Diseases. (USA). 42:45-52.
26. JAWETS, E. 1979. Manual de microbiología medica. 8 ed.  
México, Manual Moderno. p. 249 -251.
27. McLLROY, S.G.; THOMPSON, J. 1997. Control de la Salmonella en Europa. Industria Avícola. (USA). p. 22-26.
28. MENCHU ROSAL, D.E. 1996. Evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos vendidos en la vía pública, en áreas de venta callejera del departamento de Guatemala. Tesis Quim. Biol. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. p. 5,28-29.
29. MERCHANT, I.A.; PACKER, P.A. 1970. Bacteriología y virología veterinarias. 3 ed. España, Acribia. p. 890-894.
30. MEYER, H. 1993. Vaccines in salmonellosis control in animals. ZBL. BAKT. (Alemania). 278(1):407-415.
31. MILES, R.D.; BUTCHER, G.D. 1993. Salmonella controlling it in the broiler, egg industries. Feedstuffs: The Weekly Newspaper for Agribusiness. (s.l). 65(42): p. ir.
32. MOTTA RODROGUEZ, L. E. 1989. Prevalencia de salmonellosis y mycoplasmosis en aves de patio (Gallus gallus) del departamento de Sololá, que llegan a los puestos de vacunación. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 1-38.

33. MUIR, W.I.; BRYDEN, W.L.; HUSBAND, A.J. 1998.  
Comparisson of Salmonella typhimurium challenge models in  
chikens. Avian Diseases. (USA). 42:257-264.
34. ORELLANA SALGUERO, D.R. 1988. Determinación de anticuerpos  
circulantes contra las enfermedades mycoplasmosis y  
salmonellosis, en aves de patio (Gallus gallus), en el municipio de  
San Juan Ostuncalco, Quetzaltenango. Tesis Med. Vet.  
Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de  
Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 5-76.
35. PIANTINO-FERREIRA, A. J. s.f. Salmonelose aviaria.  
Brasil, Universidade de Sao Paulo, Facultade de Medicina  
Veterinaria e Zootenia, Departamento de Patología. s. p.
36. PRIMM, N.D. et al. 1997. Application of normal avian gut Flora  
by prolonged aerosolization unto turkey hatching eggs naturally  
exposed to Salmonella. In International Symposium of Salmonella and  
Salmonellosis. Francia, Bayer. p. 19-24.
37. SCHWARTZ, L.D. 1974. Manual de sanidad avícola.  
Trad. por Hugo Colon Manrique. México. Hispanoamericana.  
p. 70-72.
38. SNOEYENBOS, G.H. et al. 1979. Further studies on competitive  
exclusion for controlling salmonella in chicken. Avian Diseases.  
(USA). 23: 904.
39. TIZARD, I. 1989. Inmunología veterinaria. 3 ed.  
México, Interamericana. p. 149-150.

40. TOBIAS, E. S. 1980. Investigación de portadores manipuladoras de alimentos de instituciones hospitalarias e industriales. Tesis Quim. Biol. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. p. 26.
41. VOROS, G.; GIPPERT, T. 1992. Teste com aviguard na performance de frangos de corte e seu efeito anti-salmonella. Hungría, Instituto de pesquisa para a reprodução de pequenos animais. Bayer. s.p.
42. WHITEMAN, C.E.; BICKFORD, A.A. 1983. Manual de enfermedades de las aves. Trad. por Hugo Medina. 2 ed. USA. s.n. p. 113-115, 128-133.
43. YURRITA GASTELUN, E. 1980. Estudio de salmonellosis en 3 rastros avícolas en la ciudad de Guatemala. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 3-4.