



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**IDENTIFICACIÓN DE *Salmonella enteritidis* MEDIANTE EL USO DE PRUEBAS
SEROLÓGICAS Y BACTERIOLÓGICAS EN HUEVOS COMERCIALES**

**TESIS PRESENTADA ANTE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**POR:
ESMERALDA CHÁPERO TOVAR**



**ASESOR DE TESIS: MVZ., MC. RUBÉN MERINO GUZMÁN
MVZ., MC. DRA. ODETTE URQUIZA BRAVO**

MÉXICO, D.F.

2004.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Esmeralda Chápero
Jovar

FECHA: 02/10/06

FIRMA: [Firma]

DEDICATORIAS

ABUELITA (†):

Por que su ejemplo fue importante en mi vida, por que me hizo conocer, querer y admirar a una mujer que no se rendía ante los problemas que se le presentaban, que luchaba por lo que quería y por aquellos a quienes quería, que era valiente y sorprendentemente fuerte. Espero que desde donde se encuentre se sienta orgullosa de mí.

A TI MAMA:

Por ser el pilar de mi vida, por toda la confianza que siempre has depositado en mí, por enseñarme que para conseguir lo que uno quiere no se necesita más que empeño y dedicación, pero sobre todo por que sin tu apoyo no hubiera podido concluir con esta meta. **Te quiero mucho.**

PERLA y CARLOS:

Por que aún y cuando somos tan diferentes nos une un gran cariño, por su presencia en los momentos más difíciles de mi vida y por que cada uno de ustedes me ha enseñado a ser fuerte y a luchar por lo que quiero.

A MIS MEJORES AMIGAS:

Paola e Ivonne por todos los momentos que hemos compartido. Por que a pesar de que hemos tenido conflictos siempre hemos podido solucionarlos. Pero sobre todo, por que sé que aún y cuando no nos veamos seguido siempre podré contar con ustedes.

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

AL DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL: AVES

A MIS ASESORES:

Dr. Rubén Merino Guzmán
Dra. Odette Urquiza Bravo.

Gracias por haber dedicado parte de su valioso tiempo a la revisión de esta tesis, y por la confianza que depositaron en mí.

A LOS MIEMBROS DEL JURADO:

MVZ Cristina Escalante Ochoa
MVZ José Gpe. Gutiérrez Pabello
MVZ Gabriela Gómez Verduzco
MVZ Víctor Manuel Retroné García

Por enriquecer con sus conocimientos y comentarios esta tesis.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	2
• Genero <i>Salmonella</i>	6
• Pruebas Dignósticas	8
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
IV. RESULTADOS.....	18
V. DISCUSIÓN.....	19
VI. LITERATURA CITADA.....	23
VII. FIGURAS.....	28

RESUMEN

CHÁPERO TOVAR ESMERALDA: Identificación de *Salmonella enteritidis* mediante el uso de pruebas serológicas y bacteriológicas en huevos comerciales. (Bajo la dirección de: MVZ, MC Rubén Merino Guzmán, MVZ, MC, Dra. Odette Urquiza Bravo).

La salmonelosis aviar es una de las enfermedades con mayores repercusiones en la industria avícola y puede ocasionar problemas de salud pública (zoonosis). Su agente causal es *Salmonella*, y el serotipo que ocasiona paratifoideas en el humano es *Salmonella enteritidis* serotipo *enteritidis* (Se ser E). Se menciona como uno de los principales vectores de transmisión al huevo grado A. En este trabajo se llevó a cabo el aislamiento bacteriano como prueba de rutina para la identificación de Se ser E, así como la detección de anticuerpos por medio Aglutinación en placa (AP), Microaglutinación (MA) y ELISA, con la finalidad de poder establecer cual de las tres pruebas en combinación con el aislamiento puede hacer más eficiente el diagnóstico. El tamaño de la muestra fue de 180 huevos para plato (150 de la central de abastos y 30 del mercado de Chalco). El aislamiento bacteriano se realizó a partir de muestras de cascarón y yema. No se aisló ningún tipo de *Salmonella*, sin embargo se aisló *E. coli* y enterobacter cloacae, bacterias que muy probablemente provienen del medio ambiente. Las pruebas serológicas se realizaron a partir de muestras de yema.: La AP fue negativa en todas las muestras evaluadas, la MA detectó 0.56% de casos positivos, mientras que ELISA detectó 7.8% de casos positivos. Se realizó la prueba de χ^2 para determinar que tan significativos fueron los resultados obtenidos por Microaglutinación y ELISA, obteniéndose una significancia estadística del $P < 0.001$. Puede concluirse que la prueba ELISA en combinación con el aislamiento bacteriano puede ser de gran utilidad para el diagnóstico de *Salmonella enteritidis*.

Palabras clave: Salmonelosis, *Salmonella enteritidis* ser *enteritidis*, Aglutinación en placa, Microaglutinación. ELISA.

IDENTIFICACIÓN DE *Salmonella enteritidis* MEDIANTE EL USO DE PRUEBAS SEROLÓGICAS Y BACTERIOLÓGICAS EN HUEVOS COMERCIALES.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años la avicultura se ha convertido en un ejemplo de eficiencia productiva, ésto se debe en gran parte a la rapidez del ciclo de vida de las aves y a la facilidad de manejar un gran número de éstas en un espacio reducido (1). Las aves son un factor importante en la transformación de proteína vegetal a proteína animal en el sector pecuario, donde se obtienen conversiones alimentarias de 2 kg de alimento por kg de carne producida y pesos corporales de 2.5 kg a las 7 semanas de edad, por lo que está al alcance de la población obtener proteínas de origen animal a un bajo costo (2), sin embargo, el alcanzar estas metas ha requerido forzar el organismo de las aves de una manera constante, lo cual ha implicado la predisposición a la presentación de enfermedades diversas como la infección del saco vitelino, síndrome ascítico y salmonelosis entre otras (1). Por lo anterior debe llevarse a cabo un programa de sanidad efectivo, planeado de manera vertical, el cuál debe incluir cada uno de los eslabones de la producción como son: progenitoras, reproductoras, incubadoras y granjas comerciales de postura (1).

Según la Norma Oficial Mexicana de la Campaña Nacional Contra la Salmonelosis Aviar, ésta es una de las principales enfermedades infecciosas que afectan gravemente a la industria avícola mundial, ocasionando enormes pérdidas económicas a las industrias del pavo, pollo de engorda y huevo (3). Una estimación cita pérdidas económicas a la industria de los Estados Unidos por infecciones paratifoideas en aproximadamente 77 millones anuales (10).

Esto se debe principalmente a la contaminación de huevo y carne con *Salmonella enteritidis* (SE) y a la difusión que se ha dado de que algunos fagotipos pueden transmitirse a través de huevos para consumo al humano (Zoonosis) (4, 5).

Aunque la principal fuente de contaminación del huevo es el medio ambiente en el que es puesto, el oviducto y la cloaca pueden verse también implicados (1,4,6,7,8). La contaminación puede darse en forma directa, después de la puesta e incluso cuando las aves defecan sobre los huevos, y en forma indirecta cuando los huevos recién puestos entran en contacto con superficies contaminadas como el nido (1,4,6,7,8), por lo cual es vital la producción de huevo incubable libre de contaminación fecal para la prevención de infecciones clínicas paratifoideas (4).

Las aves domésticas de mayor edad expuestas a SE, pueden estar afectadas de diferente manera: 1) la bacteria puede eliminarse a través de sistema digestivo, puede colonizar intestino y multiplicarse, por lo que el ave se convierte en un portador sano; o finalmente, 2) puede cruzar la pared intestinal e invadir otros tejidos internos. Aunque el ave se muestre sana, transmite el organismo vía sistema reproductor (11). *Salmonella spp* puede colonizar tracto reproductor de la gallina e infectar el contenido del huevo, mientras se va desplazando a través de éste (11).

En los Estados Unidos de Norteamérica aproximadamente 40,000 casos de salmonelosis en humanos son reportados anualmente al Centro para el Control de enfermedades (CDC por sus siglas en inglés) en Atlanta Georgia y en un estimado de 2,000,000 de casos, 2000 cursan con muerte. La estadística hecha por el CDC de 1973 a 1984 muestra que el pollo estuvo relacionado en solo 5% de los casos de salmonelosis, mientras que la carne de ternero se asoció en un 19%, cerdo 7%, productos lácteos 6% y pavos 9% (10).

De 1979 a 1987 la proporción de aislamientos reportados de *Salmonella spp* en humanos fue: España 22.1-68.2%, Inglaterra (6.3-33%), Escocia (5.6-40.9%), Argentina (0.2-55.6%) y Brasil (0.4-9.2%) (12).

Algunas fuentes afirman que durante el año de 1987 en México, los casos de paratifoidea humana ascendieron a 68,423 (13), para 1991 éstos se habían incrementado a 104,105 casos (14). Según el INDRÉ para el año de 1994 eran 100,342 casos, pero para el año de 1998 éstos aumentaron a 215,155 casos (11). Sin embargo, en México no está confirmada la asociación en el consumo de huevo con los brotes de salmonelosis reportados en humanos (4,5,12)

En México, de los aislamientos de *Salmonella spp* realizados entre 1994 y 1998, el 64.9% correspondieron a muestras de origen humano y el 35.1% fueron de origen no humano (alimentos, agua y ambiente). De estas muestras de origen no humano, el 51% correspondió a alimentos preparados, el 23% de cárnicos (jamón, longaniza, chorizo, queso de puerco, etc.), 22% a carne molida de res, pollo, pescado, el 3% a lácteos y 1% a huevo (fresco y en polvo) (11).

Una vez que la persona consume una fuente contaminada de alimento, el período de incubación de SE es de 2 a 72 horas y la enfermedad puede durar de 4 a 10 días. Los síntomas incluyen diarrea, fiebre, dolor de cabeza, calambres abdominales y vómito. La severidad de la enfermedad resultante depende de varios factores como son edad, salud general, cantidad de salmonelas ingeridas entre otras (11,15). Las personas susceptibles a SE son principalmente niños, ancianos e individuos inmunocomprometidos, llegando a provocar la muerte en aquéllos que tienen un sistema inmunitario debilitado (16,17). Algunos de los principales factores que contribuyen a las infecciones son la cocción inadecuada y la falta de refrigeración de los alimentos (18).

En humanos hay dolor abdominal, diarrea, vómito, dolor de cabeza, escalofrío y fiebre en las 6 a 96 horas posinfección y en algunos casos, muerte sobre todo en pacientes muy susceptibles y pacientes inmunodeprimidos aunque esto depende del fagotipo involucrado (17,22).

Los signos clínicos en las aves dependen de la especie de *Salmonella* involucrada. En el caso de *S. pullorum* los signos clínicos son: apatía, deshidratación, diarrea blanca, alta mortalidad, panofalmitis, plumas erizadas, se agrupan, bajo peso, disminución de la producción de 1 al 20% y crecimiento reducido. Las lesiones que pueden encontrarse son inflamación crónica degenerativa en ovario, salpingitis, desarrollo de pericarditis, enteritis catarral, orquitis y neumonía supurativa focal (5,19). *Salmonella gallinarum* provoca en aves jóvenes: apatía, somnolencia, deshidratación, empastamiento cloacal, depresión, ceguera, diarrea, alta mortalidad; las aves que sobreviven pueden presentar aumento de leucocitos y pobre crecimiento. En aves adultas, la producción se reduce hasta un 30%, existiendo deshidratación, anorexia y cianosis de la cresta y las barbillas. Las lesiones que pueden llegar a producir son: hepatomegalia, esplenomegalia y necrosis multifocal en hígado, riñón y bazo; así como, focos de necrosis en miocardio y coloración bronceada en hígado, bazo, pulmón y corazón (19, 20,21). En el caso de las aves infectadas con *Salmonella enteritidis*, los signos clínicos no son específicos; sin embargo, en los pollitos de 1 a 4 semanas de edad hay mayor susceptibilidad y la mortalidad puede llegar al 20 %, especialmente cuando se trata del fagotipo 4. Existe retraso en el crecimiento, poca ganancia de peso, decaimiento y muerte. En gallinas no se observan signos, pero puede haber una reducción en la producción de huevo. La muerte puede ocurrir sin ninguna muestra de enfermedad y algunas veces pueden llegar a la madurez y vivir sin ninguna signología clínica. Las aves que no mueren quedan como portadoras sanas, lo cual es muy importante sobre todo si la infección se da en reproductoras ya que la infección puede transmitirse fácilmente a la progenie (11,17,22).

En el proceso se pueden observar esplenomegalia, hepatomegalia, enteritis, onfalitis y peritonitis. En pollos de 2 a 3 semanas hay panoftalmítis, pericarditis y a veces tiflitis (17,23,24,25).

La salmonelosis disminuye la producción, el índice de conversión alimenticia, la fertilidad y la incubabilidad, por lo cuál los gastos en tratamiento y vacunación ocasionan pérdidas económicas importantes para la producción avícola (4,18).

Género *Salmonella*

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae, fue descrito por primera vez en 1880, y comprende mas de 2400 serotipos (26), de los cuales, hay 2 inmóviles: *Salmonella gallinarum* (Sg) y *Salmonella pullorum* (Sp), el resto son móviles. Son organismos Gram negativos, bacilos no esporogénicos; miden 0.4 – 0.6 x 1-3 µm ocasionalmente forman filamentos cortos; son considerados parásito intracelulares y anaerobios facultativos (5,10,19).

Las colonias típicas en cultivos de agar son redondas, escasamente elevadas y brillantes con bordes lisos, generalmente de 1-2 mm de diámetro dependiendo el grado de dispersión en las placas. Casi nunca fermentan la lactosa o la sacarosa, forman ácido sulfhídrico y a veces gas a partir de glucosa, suelen producir H₂S, no forman indol y no desaminan la fenilalanina. No poseen cápsula, salvo algunos serotipos patógenos como es el caso de *S. typhi* (St): no requieren elementos nutricionales complejos para desarrollarse. Su rango de temperatura de crecimiento es muy amplio (6.7°C a 45.6°C) y su pH medio se aproxima a la neutralidad óptima 6.5 a 7.5 (5,10,11).

Son resistentes a la congelación en agua, la luz solar, la desecación y a ciertos agentes químicos, como el verde brillante, el tetrionato sódico y el desoxicolato sódico, tales compuestos inhiben a los bacilos coliformes, por lo cuál son útiles para el aislamiento de *Salmonella spp* (19).

Actualmente se adopta la terminología y esquematización de antígenos somáticos y flagelares realizada por Kauffmann y White. En donde se menciona que las bacterias de este género se clasifican conforme a sus antígenos: somático (O), flagelar (H) y capsular (K) o antígenos "Vi", un antígeno capsular presente en la superficie de algunas bacterias de este género como (St), más un posible antígeno F, derivado de las proyecciones filamentosas denominadas fimbrias.(27).

Desde el punto de vista epidemiológico las salmonelas se clasifican en tres grupos: el primero formado por *Salmonella typhi* (St) y *Salmonella paratyphi* (SPt) respectivamente, las cuales infectan al hombre y se propagan en forma directa o indirecta por medio de alimentos o agua contaminada. El segundo incluye serovariedades adaptadas al huésped en especies particulares de vertebrados, por ejemplo: Sg y Sp en aves, *Salmonella dublin* en ganado vacuno y *Salmonella cholerae suis* en cerdos. El tercer grupo formado por las demás serovariedades de *Salmonella*, sin tener preferencia alguna por el huésped que infectan, ya sea hombre o animales (5,19,23,25,26). Algunas fuentes mencionan que los serotipos patógenos para los animales afectan en menor grado al hombre, excepto con *Salmonella enteritidis*, la cuál se transmite de manera horizontal entre el hombre y los animales. (27,28,29)

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

Debido al interés que se ha despertado a partir de la contaminación de productos avícolas (carne y huevo), los cuales pueden derivar en infecciones en los consumidores, la legislación nacional e internacional está introduciendo constantes evaluaciones tanto microbiológicas como serológicas en las aves, con la única finalidad de prevenir, controlar y erradicar esta enfermedad (16,30,31).

Gracias a la Campaña Nacional de erradicación y control de Pullorosis y Tifoidea Aviar, en México se fueron reduciendo los casos de salmonelosis causados por salmonelas inmóviles, hasta lograr que el 17 de Mayo del 2002, en el Diario Oficial de la Federación fuera publicada la noticia de que el territorio mexicano se encontraba libre de *S. Pullorum*.(11).

La Campaña Nacional de control y erradicación de Salmonelosis Aviar se enfoca directamente a Pulorosis y Tifoidea Aviar tanto en progenitoras como en reproductoras, granjas de pollo de engorda, postura comercial, aves de combate y otras, mediante pruebas bacteriológicas de órganos, polvo de nido, cama, gallinaza, agua y alimento, así como de pruebas serológicas para la detección de anticuerpos (Ac) contra Sg y Sp (3). Con respecto a SE no existe una regulación como tal, aún cuando se ha observado un aumento en la presentación de casos de paratifoideas en humanos. Es por ésto, que las medidas establecidas en esta campaña pueden ser aplicadas para el control de este agente.

Aunque la Norma Oficial Mexicana de la Campaña Nacional Contra la Salmonelosis Aviar sugiere como pruebas oficiales para la Campaña la Aglutinación rápida en placa (AP) con sangre completa y la prueba bacteriológica para el aislamiento e identificación de *S. pullorum* y *S. gallinarum*, se ha podido observar que la microaglutinación (MA) y la prueba ELISA pueden ser una herramienta útil para el diagnóstico (1,3,16).

Aglutinación en placa (AP) es una prueba cualitativa que incluye la mezcla de suero con antígeno apropiado. Prueba sencilla que debe ser tomada como prueba inicial o de escrutinio ya que si se detecta positividad, deberán iniciarse pruebas con diluciones y el aislamiento del agente etiológico. Por medio de esta prueba se pueden detectar inmunoglobulinas IgG. Tiene como ventajas para el diagnóstico: 1) el corto tiempo entre la adición de anticuerpos al antígeno, por lo que los resultados se obtienen inmediatamente, 2) las pruebas son menos afectadas por situaciones como el exceso de anticuerpos o el exceso de antígeno que pueda producir una reacción falso negativa (altamente específica) (1,9). Sin embargo las pruebas de AP son poco sensibles y es frecuente encontrar un cierto porcentaje de reactores falso positivos ya que este antígeno puede reaccionar con otras bacterias; como por ejemplo *E. coli* (29,34).

Las pruebas cualitativas positivas como es el caso de la AP se emplean como pruebas de presunción mientras que las pruebas cuantitativas como la microaglutinación (MA) y ELISA funcionan como pruebas confirmatorias (29, 32). Se hace uso de la AP y de la MA para detectar aves portadoras de Sp y Sg; sin embargo, la prueba de MA es preferida por el ahorro de tiempo, espacio y costo, además de ser, quizás, la mejor prueba para confirmar la presencia de reactores positivos y de esta manera proceder con certeza a la eliminación de las parvadas infectadas (33).

Para la AP y la MA se utilizan antígenos preparados a partir de Sp, por su sensibilidad para detectar a las aves infectadas con *S. pullorum*, *S. gallinarum* y *S. enteritidis*. Esto se debe a que estas tres serovariedades de *Salmonella* tienen en común el antígeno somático "O" (29, 34).

La prueba ELISA (por sus siglas en inglés Enzyme Linked Immunosorbent Assay) es una prueba con mucha demanda que permite llevar un perfil serológico de las parvadas. Es altamente sensible pero poco específica, rápida, barata y puede utilizarse para el diagnóstico de prácticamente cualquier enfermedad. Su utilización es aceptado en programas de prevención de enfermedades, ya que los sistemas de inmunización están basados en el conocimiento de los anticuerpos maternos de las aves, en las respuestas de inmunización y en el campo de los inmunosupresores y de los patógenos respiratorios (35). La adopción universal de esta técnica se atribuye a las ventajas prácticas asociadas con el sistema. Los paquetes para diagnóstico en el ámbito comercial ofrecen extrema sensibilidad, reproductividad y especificidad para detección de anticuerpos. (35)

Durante los últimos años se han tenido progresos en la detección de anticuerpos contra diferentes agentes. En el caso de *Salmonella*, los métodos serológicos que actualmente se realizan son aquéllos que se basan en la producción de IgG circulante, así como los que detectan anticuerpos contra SE, ST, incluso *S. arizonae*, *S. berta*, *S. gallinarum* y *S. pullorum* (16). Por otro lado, se ha observado que la prueba ELISA puede ser útil tanto para el diagnóstico como para estimar el grado de protección de aves en campo por contaminación con *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* y *Salmonella gallinarum* / *Salmonella pullorum*, ya que es práctica, sensible a la detección de anticuerpos, económica y fácil de realizar (16,30,31). Sin embargo, los resultados varían dependiendo de la calidad del antígeno y de su manejo. Gast (1997), encontró esas diferencias entre los resultados obtenidos y las preparaciones de los antígenos, en aves infectadas con las diferentes variantes de Sp.

A pesar de que los sistemas de ELISA para uso en avicultura han sido diseñados para examinar suero, estos sistemas también se han empleado para detectar anticuerpos en yema de huevo. El uso de muestras de yema ofrece muchas ventajas en comparación con el suero, la más importante es la capacidad de recolectar las muestras sin comprometer la seguridad de la parvada. Una desventaja de tomar muestras de yema comparada con el suero es la preparación de la muestra para la detección de anticuerpos (36). Al respecto, Mohammed (1986) observó que los anticuerpos se agregan al óvulo en vías de desarrollo en los círculos concéntricos del epitelio folicular, por lo cual no se distribuyen uniformemente a lo largo de la yema, por lo que es necesario el uso de procedimientos especiales que ayuden a que los anticuerpos se distribuyan uniformemente por medio del mezclado. Se han descrito varios procedimientos que distribuyen uniformemente los anticuerpos a lo largo de la yema, entre estos procedimientos se encuentran la concentración de los anticuerpos por extracción con cloroformo, sulfato de amonio y precipitación de propilen glycol y centrifugación. Sin embargo, estos métodos son laboriosos y no muy prácticos para él diagnostico. (36)

El uso de la yema de huevo en sustitución del suero se ha llevado a cabo en experimentos donde se involucran distintos agentes tanto virales como bacterianos con resultados satisfactorios y sin que esto afecte a la prueba (16,34,38); entre éstos, se encuentra el virus de la enfermedad de Newcastle (VENC), el virus de Bronquitis infecciosa (VBI), el virus de la Infección de la bolsa de Fabricio (IBDV), Síndrome de baja Postura (EDS), reovirus, *Mycoplasma gallisepticum* (Mg), y *Salmonella enteritidis* entre otras (36,38).

En un estudio realizado por García (1996), de 95 cepas de *Salmonella* spp móvil aisladas a partir de aves domésticas, el 78.95% de los aislamientos resultó positivo a las pruebas de serotipificación identificándose como *S. enteritidis* serotipo *enteritidis*, lo cual confirmó la presencia de este agente en México (5).

El diagnóstico oportuno de las paratifoideas permitirá tomar medidas necesarias y pertinentes para establecer y llevar a cabo un programa de control y erradicación (3). Para esto se han usado con mayor frecuencia métodos de diagnóstico para su identificación y estudios para conocer su transmisión y patogenia (5). Sin embargo, a pesar de las medidas que se han adoptado para el control de la salmonelosis, existen factores que limitan esta tarea, como son: 1) dificultad para el diagnóstico y para su rápida detección, 2) el aislamiento bacteriano es considerado como la única garantía diagnóstica, 3) la existencia de variabilidad y errores en las pruebas serodiagnósticas, 4) evolución asintomática o sin mortalidad de la enfermedad, 5) difusión y transmisión errática de la misma y 6) dudosa efectividad de las vacunas existentes (39).

Debido a lo antes expuesto es importante realizar constantes evaluaciones tanto serológicas como microbiológicas en las aves, con la finalidad de diagnosticar oportunamente para así prevenir, controlar y erradicar la presentación de paratifoideas por considerarse un problema de salud pública. Para esto es necesario contar con pruebas serológicas eficientes, que ayuden al diagnóstico de la enfermedad.

OBJETIVO GENERAL

Hacer uso de las pruebas de Aglutinación en placa (AP), Microaglutinación (MA) y ELISA para detectar anticuerpos contra *Salmonella enteritidis* en yema de huevo comercial, en conjunto con el aislamiento bacteriano para el diagnóstico de paratifoideas.

OBJETIVOS PARTICULARES

Determinar la presencia de *Salmonella enteritidis* en huevos para consumo humano mediante el aislamiento bacteriano.

Evaluar diferentes pruebas serológicas (AP, MA Y ELISA), para detectar anticuerpos contra *Salmonella enteritidis* en muestras de yema de huevo comercial.

HIPÓTESIS

De las pruebas serológicas utilizadas, la prueba ELISA en combinación con el aislamiento bacteriano pueden hacer más eficiente el diagnóstico de *Salmonella enteritidis*.

MATERIAL Y MÉTODOS

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Se utilizaron 180 huevos: 150 fueron obtenidos en la Central de abastos de la Ciudad de México de distintos distribuidores. De igual manera se consiguieron 30 en el mercado popular de Chalco Estado de México.

Los huevos fueron transportados al laboratorio de bacteriología del Departamento de Producción Animal: Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM..

MUESTREO EXTERNO

Para realizar el aislamiento bacteriano, tomando como base la metodología establecida por Gentry (1972) y Castañeda (1995), con las siguientes modificaciones:

a) para el muestreo externo de cascarón se incluyó membrana externa y membrana interna, b) la prueba fue cualitativa.

Todas las muestras fueron procesadas bajo condiciones de esterilidad. Cada huevo se identificó con un número. Se colocaron en bolsas de plástico individuales, empleándose guantes de hule para evitar contaminar el cascarón con las manos. Cada huevo se lavó en 9 ml de Solución Amortiguadora de Fosfatos (PBS) durante 3 minutos.

De cada lavado se obtuvo 1 ml de solución y se depositó en tubos con 9 ml de caldo tetrionato¹ (CTT). Posteriormente los huevos se secaron con toallitas de papel, se rociaron con alcohol al 70% y se abrieron con tijeras y pinzas estériles. Se tomó un fragmento de cascarón de aproximadamente 0.1 g que incluyó membrana externa e interna y se añadió a los tubos que contenían el lavado del cascarón y el CTT. Los tubos se homogenizaron y fueron incubados durante 18 horas a 37°C.

Después de la incubación, se tomó una asada a partir del CTT de cada tubo y se sembró en cajas de Petri que contenían Agar Mc Conkey (McC)², Agar de Soya Tripticaseína (TSA)² y verde Brillante (VB)², las cajas se incubaron durante 18 horas a 37°C. De las colonias sospechosas se realizó el aislamiento en cultivo puro, para su posterior identificación mediante pruebas bioquímicas: Citrato², Urea², Agar de Hierro y Lisina (LIA)², Agar de Hierro Tres Azúcares (TSI)² y la prueba de Azufre, Indol y Motilidad (SIM)¹.

MUESTREO INTERNO

De cada huevo se tomaron 2 ml de yema, 1 ml se depositó en tubos con 9 ml de CTT, se homogenizaron y se incubaron durante 18 horas a 37°C. Posteriormente se sembró una asada de CTT en los medios sólidos ya descritos para el muestreo externo.

El otro mililitro se dividió en 0.5 ml para la prueba ELISA y 0.5 ml para aglutinación en placa y microaglutinación, cada muestra se mezcló en 0.5 ml de PBS y se mantuvieron bajo congelación y refrigeración respectivamente hasta su uso.

¹ DIFCO. Laboratories Detroit MI 48232-7058 USA

² Bioxon de México S.A de C.V

ELISA

Se empleo un paquete comercial³ sensibilizado con lipopolisacarido de *Salmonella enteritidis*, la prueba se realizo conforme a las especificaciones del fabricante. La densidad óptica (absorbancia) del color desarrollado en la microplaca se leyó a 405 nm de longitud de onda con un lector de ELISA⁴. Los resultados fueron interpretados conforme a una fórmula de regresión lineal simple en la que se tomó como referencia el logaritmo base 10 de la positividad de cada muestra. Los rangos que se utilizaron para interpretar los resultados fueron: Títulos de 0 a 749 = negativos; de 750 a 1795 = sospechosos y \geq a 1796 = positivos.

Aglutinación en placa

En una placa de acrílico se colocó 0.1 ml de cada muestra de yema diluida 1:2 en PBS, posteriormente se les agregó una gota de antígeno K polivalente de *Salmonella pullorum*⁵. Se mezclaron por movimientos rotatorios suaves y se incubaron durante 2 minutos a temperatura ambiente (40). Interpretación de los resultados: Positiva, si la aglutinación (formación de grumos) suave o fuerte, aparece entre los cero y noventa segundos, después de realizar la mezcla; sospechosa si la aglutinación aparece entre 90 y 120 segundos, después de realizada la mezcla, y negativa, si la aglutinación aparece después de 120 segundos de realizada la mezcla (3).

³ Biovet, Laboratories. *S. enteritidis* antibodies detection kit. cat. A 019 Saint Hyacinth. Canada.

⁴ Dinattech MR 650, Laboratories Inc. Alexandria Virginia 22314

⁵ VINELAND, Laboratories of immunogenetics, Inc. New Jersey. 1103.

Microaglutinación

Se utilizaron microplacas de 96 pozos fondo en U⁶, en las cuales se depositaron en la primer columna de cada placa 200 µl de yema diluida 1:2 en PBS, a partir de la siguiente columna se colocaron 100 µl de PBS, posteriormente se realizaron diluciones dobles seriadas a partir de la dilución 1:2 hasta la dilución 1:64. Por último se colocaron en todos los pozos 100 µl de antígeno de *S. pullorum* de elaboración local⁷ diluido 1:8 en Solución Salina Fisiológica (SSF) fenolizada. Se incubó en cámara húmeda durante 24 horas a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se interpretaron los resultados, para lo cual se tomó en cuenta la dilución más alta en la que se formó aglutinación completa. Los rangos utilizados fueron: títulos de 0 a 8 se consideraron negativos; títulos de 16 sospechosos y mayores o iguales a 32 positivos (40).

Los resultados obtenidos por las tres pruebas serológicas, así como los obtenidos en el aislamiento bacteriano fueron interpretados con la prueba de χ^2 .

El diseño experimental utilizado en este trabajo para el manejo de las muestras, se encuentra esquematizada en la Figura 1.

⁶ Falcon Decton Dickinson and company, Indianapolis Houston.

⁷ Depto. de Producción Animal Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM

RESULTADOS

El aislamiento bacteriano demostró ausencia de *Salmonella enteritidis* en todos los grupos evaluados, tanto por muestreo externo como interno, no así de otras bacterias, siendo *E.coli* la bacteria más aislada (70%) y *Enterobacter cloacae* (30%). Todos estos aislamientos se dieron principalmente en cascarón.

La prueba de aglutinación en placa dió como resultado ausencia de aglutinación en todas las muestras evaluadas.

En la figura 2, se muestran los porcentajes correspondientes a los casos positivos, negativos y sospechosos que se obtuvieron en la prueba de microaglutinación (MA). Los títulos considerados como positivos fueron a partir de la dilución 1:32. De las 180 muestras evaluadas el 75.6% fueron negativas, el 23.9% fueron sospechosas y el 0.5% positivas.

La figura 3, muestra la relación porcentual de casos positivos, negativos y sospechosos, identificados por ELISA. Los títulos considerados como positivos fueron pocos, sin embargo, estos rebasaron por mucho el rango de positividad establecido anteriormente (>1796). De las muestras evaluadas el 7.8% fueron positivas, el 13.9% fue sospechoso a SE y el 78.3% de las muestras resultaron negativas*.

El cuadro 1, muestra un comparativo de los resultados obtenidos por las pruebas de ELISA y MA interpretados por medio de la prueba de χ^2 con la finalidad de determinar la significancia estadística existente entre los resultados obtenidos por ambas pruebas. La prueba determinó una significancia estadística de $P < 0.001$.

* Este porcentaje fue obtenido tomando como el 100% la cantidad de muestras evaluadas.

DISCUSIÓN

La salmonelosis aviar es una enfermedad infecciosa, que causa grandes repercusiones económicas para la industria avícola de todo el mundo debido a la contaminación de huevo y carne por *Salmonella* y al incremento en la presentación de casos de paratifoidea humana (4,5). Esta enfermedad puede ocurrir ya sea en forma subclínica o en forma clínica, siendo la primera quizá la más frecuente e importante. El organismo del ave hace poco por excluirla o eliminarla y es por esta razón que se dice que las aves son "colonizadas" y no infectadas, provocando así la contaminación del producto final, ya sea carne o huevo. Ambas formas de presentación son un peligro para la salud humana (16,30,31,41).

Se menciona que el fagotipo de *Salmonella* más comúnmente encontrado en aves hasta antes de 1994 fue el 8, 13, y 13^a, sin embargo, un examen a nivel nacional realizado en 1996 por el Departamento de Salud en Canadá, concluyó que SE Pt 4 estuvo presente en huevos comerciales y por lo tanto, los reportes en humanos aumentaron (11,42).

Padrón (1992), en un estudio de campo encontró que el 12% de los huevos limpios puestos en nidos habían sido penetrados y contaminados por diferentes bacterias. El 84% de los huevos contaminados tuvieron un rango de entre 1 y 20 bacterias por huevo que lograron penetrar hasta la membrana interna. Los datos anteriores coinciden con los obtenidos en este estudio donde no se aisló SE a partir de las muestras de huevo evaluadas, sin embargo, se aislaron en la mayoría de los grupos, *Escherichia coli* (70%) y *Enterobacter cloacae* (30%), bacterias que muy probablemente provienen del medio ambiente.

En cuanto a la detección de Ac contra SE, se ha informado que anticuerpos específicos obtenidos del suero de gallinas infectadas, confieren títulos relativamente altos posterior a la infección, ya sea natural o experimentalmente. También pueden detectarse anticuerpos de SE en la yema de huevo de gallinas infectadas, aunque los títulos altos son obtenidos más lentamente (16).

En este estudio más del 70 % de las muestras fueron negativas tanto por la prueba de microaglutinación como por la prueba ELISA, sin embargo esta última acortó el rango de sospechosos.

Es importante mencionar que el obtener títulos altos (> 1796) en ELISA pueden ser indicativos de exposición a cepas de campo o bien empleo de revacunaciones. Por el contrario, títulos bajos (< 749) pueden ser sugestivos de una vacunación primaria, mala respuesta posvacunal o que no hubo exposición a una cepa de campo (44).

Por otro lado, Chart *et al.*, (1990), encontró diferencias entre los resultados obtenidos por la aglutinación y aquellos obtenidos con ELISA en muestras de suero de una parvada infectada con SE. Estas diferencias consistieron en que de algunas muestras que fueron negativas por la prueba de aglutinación, al realizarles la prueba de ELISA se obtuvieron valores de Densidad Óptica (DO) relativamente altos, mientras que sueros que fueron positivos tuvieron DO bajas. Los resultados anteriormente descritos fueron muy similares a los obtenidos en este trabajo, donde todas las muestras fueron negativas por la prueba de aglutinación en placa, mientras que por la prueba de ELISA obtuvieron títulos altos.

Smith *et al.*, (1972), menciona que la aglutinación es más precisa y más sensible en muestras de suero obtenidas en las fases tempranas de la infección cuando los títulos de IgM son más altos. Aún así esta prueba es reconocida por su baja sensibilidad y su baja especificidad. Sin embargo al comparar la MA con los títulos obtenidos por ELISA, se observaron grandes diferencias, debido a que, una muestra que en ELISA fue positiva en la MA fue negativa.

Con respecto a la preparación de la muestra, Keck (1993), menciona que los resultados en ELISA pueden variar dependiendo del método que se utilice para diluir la yema, pues en su estudio empleó un método de dilución simple sin ninguna mezcla ni extracción, obteniendo títulos más bajos en la yema que los que obtuvo con el suero. Por otro lado, Silim (1989) realizó un estudio similar, en el cuál hizo un comparativo entre las muestras de yema y suero para detectar títulos de anticuerpos de 4 virus aviares por ELISA, mediante la separación, homogenización y extracción con cloroforno en la yema. En dicho estudio se obtuvieron títulos de anticuerpos más altos en yema.

Al momento de realizar este experimento no se contaba con la información suficiente acerca de lo que implicaba trabajar con yema de huevo, por lo que se diluyó únicamente con PBS.

Barrow (2000), y Desmidt *et al* (1996), coinciden en que existen reacciones falso positivas o reacciones cruzadas, debido al uso de muestras muy diluidas, a una mala elección en el *kit* o por la misma muestra de yema, la cuál contiene grasa que puede interferir con los resultados.

No obstante, las pruebas serológicas permiten el diagnóstico de muchas muestras en un día, en especial ELISA que aunado a lo anterior es más sensible a la detección de anticuerpos, fácil de realizar y económica lo que la convierte en una alternativa para el diagnóstico de *Salmonella* en combinación con el aislamiento bacteriano.

Al realizar la prueba de χ^2 se obtuvo una significancia estadística de $P = 0.0001$, lo cual indica que los resultados obtenidos en ambas pruebas son estadísticamente aceptables, pues el margen de error debía ser menor o igual a $P \leq 0.001$. Como puede observarse en el cuadro 1. La prueba de MA detectó 45 muestras sospechosas, mientras que la prueba ELISA detectó 26. Por lo cual se puede decir que la prueba ELISA redujo los casos sospechosos clasificándolos en positivos o negativos. Lo anterior es muy importante si lo que se busca es una mayor confiabilidad en el diagnóstico.

CONCLUSIONES

- En este trabajo no se aisló *S. enteritidis* en ninguno de los huevos analizados.
- Mediante ELISA, se obtuvo el 7.8 % de yemas positivas.
- La Aglutinación en placa fue negativa en todas las muestras.
- La MA obtuvo el 0.56 % de yemas positivas

LITERATURA CITADA

- 1) Estudillo LJ. Prefacio. Examen general de calidad profesional para Medicina Veterinaria y Zootecnia: Material de estudio área: aves. Editor Isidro Castro Mendoza. México (D.F), 1996.
- 2) Unión Nacional de Avicultores: Compendio de Indicadores Económicos del Sector Avícola 1997. Dirección de Estudios Económicos. México (D.F), 1998.
- 3) Norma Oficial Mexicana NOM-005-ZOO-1993. Campaña Nacional contra la Salmonelosis Aviar. Diario Oficial de la Federación. 01-09-1994.
- 4) Castañeda SMP. Efecto de la irradiación con electrones en huevos fértiles inoculados experimentalmente con *Salmonella enteritidis* sobre la incubabilidad y desarrollo productivo. Tesis de maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., 1995.
- 5) García MA, Téllez IG, García EG, Valladares CJC, Urquiza BO. Determinación de la existencia de *Salmonella enteritidis* serotipo *enteritidis* a partir de 95 aislamientos de *Salmonella* sp de brotes de campo en aves domésticas. Vet. Méx 1996; 27: 343-345.
- 6) Gentry RF, Quarles CL. The measurement of bacterial contamination in egg shell. Poultry Sci 1972; 51: 930-933.
- 7) Quarles CL, Gentry RF, Bressler GO. Bacterial contamination in poultry houses and its relationship to egg hatchability. Poultry Sci 1970; 49: 60-66.
- 8) Tadashi M, Toshiaki H, Tsuneo F, Kazumi, S, Eiichiroh B. Changes in microflora of the cloaca and oviduct of hens after intracloacal or intravaginal inoculation with *Salmonella enteritidis*. Avian Dis 1998; 42:536-544.
- 9) Padrón NM. Calidad microbiológica del huevo incubable. Avicultura Profesional 1992; 6: 173-178.
- 10) Téllez IG, Ortega AD.: El impacto de *Salmonella enteritidis* en la avicultura comercial. Memorias del XIII Curso Avimex, México, D.F., 2001.
- 11) Urquiza BO. Salmonela Aviar. Una patología de preocupación especial. Los Avicultores y su entorno 2002, 5:28.

- 12) Guerrero LML. *Salmonella enteritidis* not detected in commercially distributed hen eggs in Mexico. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1998.
- 13) Secretaría de Salud (SS). Anuario de Información Epidemiológica de Morbilidad en los Estados Unidos Mexicanos, 1988. Dirección General de Epidemiología, Departamento de Morbilidad, México, D.F. (1989).
- 14) Secretaría de Salud (SS). Anuario de Información Epidemiológica de Morbilidad en los Estados Unidos Mexicanos, 1991. Dirección General de Epidemiología, Departamento de Morbilidad, México, D.F. (1992).
- 15) Gil SA, Mazón RA, Martín SC, Urtiaga DM, Inza EME. Salmonelosis No tifoidea en un area de salud de Navarra España. Rev Esp Salud Pública 2002; 76:49-56.
- 16) Barrow PA. The paratyphoid salmonellae. Rev Sci Tech Off Int Epiz 2000; 19: 351-375
- 17) Urquiza BO. Paratifoidea Aviar. Memorias de la III Jornada Médico Avícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, 1992.
- 18) Lozano PIF. Determinación de *Salmonella* spp en órganos internos, suero, heces y huevo en gallinas de postura. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., 1995.
- 19) Snoeyenbos GH, Williams JE. Diseases of Poultry. Edited by Calnek BW. Salmonellosis. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 1991: 72-86.
- 20) Pomeroy BS, Nagaraja KV. Fowl typhoid. Calnek BW, Barnes HJ, Heard CW, Raid WM, Yoder HW. Editors. Diseases of poultry Iowa State University pres, Ames Iowa, USA. 1991 : 87 – 98.
- 21) Ashton WLG. Poultry diseases. In: Jordan FTW. Editor. Fowl typhoid. 3era Ed. Baillieri Tindall, London, England, 1990: 11-31.
- 22) Nagaraja KV, Pomeroy BS, Williams JE. Diseases of Poultry. Calnek. BW. Editor. Paratyphoid Infections. Iowa State University pres, Ames Iowa, 1991: 99 – 130.

- 23) Davies BD, Dubelco R, Eisen HN, Grisberg HS, Wood WB. Tratado de Microbiología. 2da ed. Barcelona, España: Salvat, 1979.
- 24) Jawets E, Melnick JL, Adelberg EA. Médica. 14a ed. El Manual Moderno, México, D.F., 1992.
- 25) Salyers AA, Whitt DP. Bacterial Pathogenesis. A molecular approach. Salmonella infections. American Society for Microbiology Press. Washington (DC), 1994:229-243.
- 26) Euzéby JP. Revised Salmonella nomenclature: designation of *Salmonella enterica* (ex Kaufman and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987 sp. Nov., nom. Rev. As the neotype species of the genus *Salmonella* *lignieres* 1900 (approved lists 1980), rejection of the name *Salmonella choleraesuis* (Smith 1894) Weidm 1927 (approved lists 1980), and conservation of the name *Salmonella typhi* (Schroeter 1886) Warren and Scott 1930 (approved lists 1980). Request for an opinion. Int J Sys Bacteriol 1999; 49: 927-930.
- 27) Barragán HEA. Investigación epidemiológica de *Salmonella*. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1993.
- 28) Anónimo. Salmonox. www.lntewe.com/salmonox.html 1997.
- 29) Castañeda LE. Informe de los casos recibidos en el departamento de Producción Animal Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM para el diagnóstico de *S. gallinarum* en el período 1982-1993. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. México, D.F., 1994.
- 30) Barrow PA. Use of ELISAs for monitoring *Salmonella* in poultry. Vet. Rec 1994; 22: 99.
- 31) Desmidt M, Ducatelle R, Haesebrouck F, De Groot PA, Verlinden M, Wijffels R, Hinton M, Bale JA, Allen VM. Detection of antibodies to *Salmonella enteritidis* in sera and yolks from experimentally and naturally infected chickens. Vet Rec 1996; 138: 223-226.

- 32) Gast RK, Porter RE, JR., Holt PS. Assessing the sensitivity of egg yolk antibody testing for detecting *Salmonella enteritidis* infections in laying hens. *Poultry Sci* 1997; 76: 798-801.
- 33) Olsen RC, Steven K. Inmunología e Inmunopatología de los animales domésticos. Manual Moderno, México D.F. 1983.
- 34) Rosales G. Prueba de microaglutinación para la detección de infecciones producidas por *Salmonella pullorum* y *S. gallinarum*. *Avicultura profesional*, Vol. 5 No. 1 Año 1987.
- 35) León EM. Desarrollo y Descripción de la Técnica de ELISA en el Diagnóstico Avícola. Memorias de la 111 Jornada Médico Avícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, 1992
- 36) Keck LD, Skeeles JK, McNew RW. Antibody Detection in Matched Chicken Sera and Egg-Yolk Samples by Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kits for Newcastle Disease Virus, Infectious Bronchitis Virus, Infectious Bursal Disease Virus, and Avian Reovirus. *Avian Dis* 1993; 37:825-828.
- 37) Mohammed HO, Yamamoto R, Carpenter TE, Ortmayer HB. Comparison of Egg Yolk and Serum for the Detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma sinoviae* Antibodies by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Avian Dis* 1986; 30:398-407.
- 38) Brawn MG, Stoll ML, Scasserra AE, Butcher GD. Detection of Antibodies to *Mycoplasma gallisepticum* in Egg Yolk Versus Serum Samples. *J. Clin. Microbiol* 1991; 29:2901-2903.
- 39) Colusi AD. Situación actual y control de la Tifoidea Aviar. *Tecnología Avípecuaria*, 2002, 15:168.
- 40) Padrón NM. Infección por *Salmonella gallinarum* en aves semipesadas: Detección de anticuerpos en sangre y yema por medio de las pruebas de aglutinación en placa con suero y microaglutinación. Memorias del IX Congreso Latinoamericano de Avicultura, XXIV Congreso Nacional de Avicultura, X Convención ANECA. 831-840 (1985).

- 41) Rosales NZ, Téllez IG, Sánchez RE, Trejo RM, Quintana JA, Urquiza O, Hargis BM. Penetración de *Salmonella enteritidis* en huevos fértiles y huevos infértiles a diferentes estadios de incubación. Memorias de la IV Jornada Médico Avícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, 1993.
- 42) Gast RK and Holt PS. Experimental horizontal transmission of *Salmonella enteritidis* strains (Phage 4,8, and 13A) in chicks. Avian Dis 1999; 43: 774-778.
- 43) Gázquez A. Bioseguridad en avicultura. Boletín de bioseguridad Bayer 2001; 1:2. 1-2
- 44) García RME. Interpretación de los resultados obtenidos con la técnica de ELISA. Memorias de la III Jornada Médico Avícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, 1992.
- 45) Chart H, Rowe B, Baskerville A, Humphrey TJ. Serological analyses of chicken flocks for antibodies to *Salmonella enteritidis* infection. Vet Rec 1990; 127:501-502.
- 46) Smith PJ, Larkin M, Brooksbank NH. Bacteriological and serological diagnosis of salmonellosis of fowls. Res Vet Sci 1972; 13:460-467.
- 47) Silim A, Venne D. Comparison of egg-yolk and serum antibody titers to four avian viruses by enzyme-linked immunosorbent assay using paired field samples. Avian Dis 1989; 33:643-648.

Figura 1. Metodología utilizada en el procesamiento de las muestras

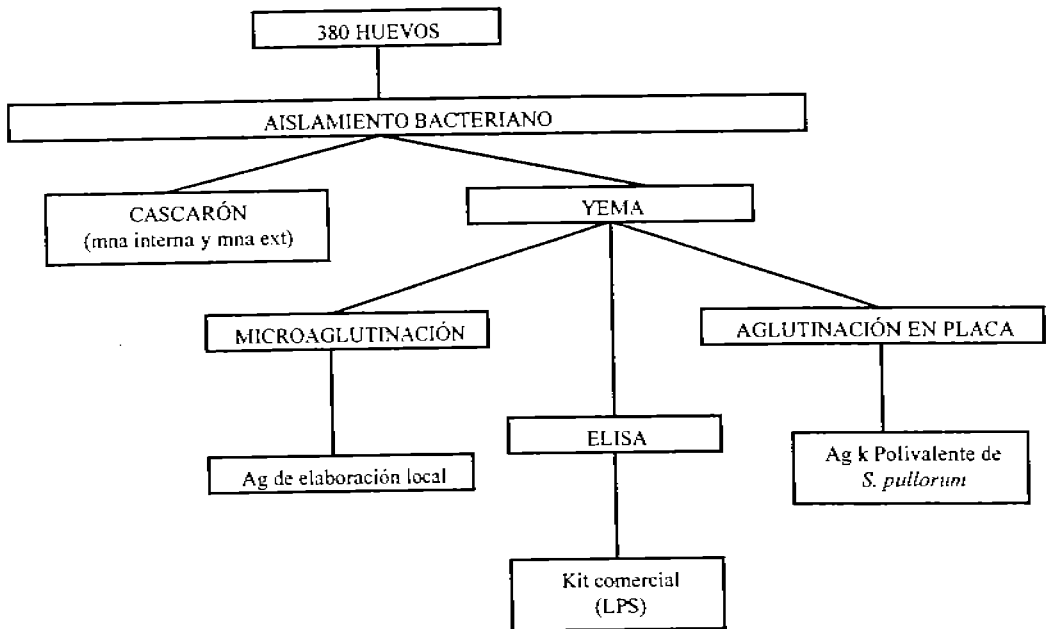


Figura 2. Relación porcentual de casos positivos, sospechosos y negativos, identificados en la prueba de MA

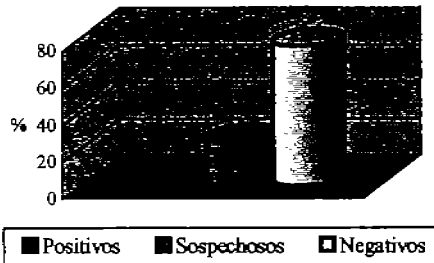


Figura 3. Relación porcentual de los casos positivos, negativos y sospechosos, identificados en la prueba de ELISA



Cuadro 1. Comparativo sobre los resultados obtenidos en la MA y ELISA

	MA			Total	
	+	-	?		
ELISA	+	0	12	1	13
	-	0	102	39	141
	?	1	20	5	26
	Total	1	134	45	180