

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**"*Salmonella* spp. EN GALLINAS DE CRIANZA
ARTESANAL EN 5 CENTROS POBLADOS DEL
DISTRITO DE SANTIAGO - ICA, SETIEMBRE
2012 - ENERO 2013"**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

BIÓLOGO

PRESENTADO POR

**Bach. SOTOMAYOR PARIÁN, RAQUEL MERCEDES
Bach. VELÁSQUEZ HUAMANTUPA, CARMEN ABIGAIL**

ICA - PERÚ

2014

A DIOS

Por permitirme culminar con éxito el esfuerzo de todos estos años de estudio. Por darme la oportunidad de vivir y estar conmigo en cada paso que doy, por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A MIS PADRES:

Por ser los pilares fundamentales en mi vida, por todo su esfuerzo y sacrificio. Por su amor y apoyo incondicional en cada paso de mi vida, alentándome en los momentos más difíciles a tomar las mejores decisiones.

A MIS HERMANOS

Giovana y Samuel

Por su ayuda y apoyo incondicional que me brindaron en los momentos que más lo necesité.

A MI COMPAÑERA DE TESIS.

Mi gran amiga Carmen, por su comprensión y que a pesar de todos los obstáculos que se nos presentaron logramos el objetivo final.

Raquel.

A DIOS

Porque siempre escuchó mis rezos, por cuidar cada uno de mis pasos en esta larga trayectoria.

A MIS PADRES Y HERMANOS

Por su apoyo incondicional, me enseñaron a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento de ser siempre mejor, por su eterno y grande cariño que me enseñaron que las grandes victorias se logran poniéndole mucho amor, pasión, perseverancia y fe.

A JAIRO

Por su gran amor, empuje y exigencias por lograr lo que hoy estoy alcanzando.

A MIS AMIGAS

Raquel, Katty, Melcy y Paola. Por su cariño, solidaridad, amistad y todo lo que vivieron a mi lado en los cortos cinco años que pasamos juntas como hermanas.

Carmen.

AGRADECIMIENTO

Queremos expresar nuestros más sinceros agradecimientos a todos aquellos que en alguna forma han contribuido a la realización de este trabajo de investigación:

Un agradecimiento especial a la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, por abrir sus puertas a jóvenes como nosotras, por albergarnos en sus aulas habiéndonos permitido adquirir los conocimientos y la experiencia necesaria para poderla aplicar en la práctica, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como personas de bien.

Un especial reconocimiento y consideración a la Blga. Mblga. Marianella Salinas Fuentes y al Blgo. Miguel Angel Luna Pineda, asesores de la presente investigación, por su orientación, conocimientos, aportes y tiempo brindados para el desarrollo de este estudio.

Nuestro más eterno agradecimiento al Instituto Nacional de Salud (INS) – Laboratorio de Enteropatógenos, especialmente a la Blga. Maria Luz Zamudio y Tec. Ana Meza por su colaboración desinteresada para el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Al Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, por apoyarnos a lo largo de la realización del presente estudio.

RESUMEN

La salmonelosis es una de las principales enfermedades transmitida por alimentos (ETA) a nivel mundial, constituyendo un problema de salud pública. La crianza artesanal de aves en Ica es usual, por lo que sus prácticas inadecuadas pueden convertirse en una posible fuente de contaminación, trayendo consigo la presencia de esta bacteria patógena. El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de *Salmonella* en gallinas de crianza artesanal en 5 centros poblados del distrito de Santiago – Ica. Se recolectaron 80 muestras de hisopado cloacal en gallinas, obtenidas de viviendas con corrales de crianza; de los centros poblados: Santiago (cercado), Casa Blanca, La Venta Baja, Lujaraja y la Joya; para su aislamiento se utilizó la metodología según ISO 6579:2002. Las colonias sospechosas fueron caracterizadas por pruebas bioquímicas y serotipificación. Se detectaron y aislaron 4 (100%) cepas de *Salmonella* Typhimurium, correspondiendo 1 (25%) para Santiago, 2 (50%) para Casa Blanca, y 1 (25%) para La Venta Baja. En conclusión, existe presencia de *Salmonella* en gallinas de crianza artesanal del distrito de Santiago, de acuerdo a las pruebas de validación de hipótesis y los criterios de vigilancia del SENASA, determinando que Casa Blanca es el centro poblado más expuesto a brotes de salmonelosis.

Palabras clave: *Salmonella*, gallinas, centros poblados, Santiago, hisopado cloacal.

ABSTRACT

The salmonellosis is one of the principal diseases transmitted by food (ETA) worldwide, constituting a problem of public health. The handcrafted upbringing of birds in Ica is usual, for what his inadequate practices can turn into a possible pollution source, bringing I obtain the presence of this pathogenic bacterium. The aim of the present study was Ica determined Salmonella's presence in hens of handcrafted upbringing in 5 centers filled with the district of Santiago. 80 samples were gathered of hisopado cloacal in hens obtained of housings with corrals of upbringing; of the populated centers: (surrounded) Santiago, White House, The Sale Goes down, Lujaraja and the Jewel; for his isolation the methodology was in use according to ISO 6579:2002. The suspicious colonies were characterized by biochemical tests and serotipificación. They detected and isolated 4 (100%) Salmonella Typhimurium's vine-stocks, corresponding 1 (25%) for Santiago, 2 (50%) for White House, and 1 (25%) for The Low Sale. In conclusion, Salmonella's presence exists in hens of handcrafted upbringing of the district of Santiago, of agreement to the tests of validation of hypothesis and the criteria of vigilance of the SENASA, determining that White House is the populated center most exposed to outbreaks of salmonellosis.

Key words: Salmonella, hens, populated centers, Santiago, hisopado cloacal.

ÍNDICE

Resumen	iv
Abstract	v
I. Introducción.....	1
II. Antecedentes.....	5
III. Material y métodos.....	10
3.1. Material.....	10
3.1.1. Ubicación geográfica.....	10
3.1.2. Población.....	10
3.1.3. Muestra.....	10
3.2. Método.....	11
3.2.1. Muestreo.....	11
3.2.2. Obtención de la muestra biológica.....	12
3.2.3. Procesamiento de la muestra.....	12
3.2.4. Aislamiento.....	13
3.2.5. Identificación.....	14
3.2.6. Expresión de resultados.....	20
IV. Resultados.....	22
V. Discusión.....	26
VI. Conclusiones.....	30
VII. Recomendaciones.....	31
VIII. Referencias Bibliográficas.....	32
IX. Anexos.....	37

I. INTRODUCCIÓN

El género *Salmonella*, se incluye en la familia enterobacteriaceae, integrado por bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, no esporulados, presentando las características generales de las enterobacterias: fermentan la glucosa, catalasa positivo, oxidasa negativo y suelen ser móviles gracias a sus flagelos peritricos ⁽¹⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁷⁾. Estos microorganismos crecen en un amplio rango de temperatura (7°- 48° C) y pueden desarrollarse a un pH entre 4 - 9.

La nomenclatura de *Salmonella* es compleja. Se han utilizado diferentes sistemas para referir este género y ha variado continuamente, sin embargo la mayoría ha optado por la nomenclatura recomendada por el Centro de Referencia e Investigación de *Salmonella* de la Organización Mundial de la Salud en el Instituto Pasteur (WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*), el cual está basado en la propuesta de Kaufmann en 1966, así; se divide el género en dos especies: *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*, dividida esta última en 6 subespecies: *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houenae* (IV), e *indica* (VI) que se diferencian por sus características bioquímicas y genéticas ⁽⁵⁾⁽⁸⁾⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾.

Las especies de *Salmonella*, forman parte de la flora en el intestino de muchos animales, debido a que éste ambiente les ofrece un medio favorable para el normal desarrollo de éste microorganismo ⁽¹⁾⁽⁴⁾⁽¹³⁾. *Salmonella* causa un amplio número de manifestaciones clínicas en los seres humanos como son fiebres entéricas, gastroenteritis, bacteriemia, infecciones localizadas, y

estado de portador crónico, esta enfermedad se presenta tanto en casos aislados como en brotes, que afectan a una familia o varios cientos y miles de personas de una población. Excluyendo a *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi (A y C) y *Salmonella* Sendai, agentes causales de las llamadas fiebres entéricas que afectan específicamente al hombre, todas las demás serovariedades de *Salmonella* se pueden considerar como zoonosis, siendo éstas las más difundidas en el mundo ⁽⁴⁾⁽¹⁴⁾⁽²⁹⁾⁽³⁰⁾.

La infección debida a serovariedades no tíficas de *Salmonella* spp. representa un problema de salud pública nacional e internacional, que se ha agudizado con la apertura económica y la globalización, debido a que el consumo de carne de pollo, huevos y subproductos se ha incrementado en todo el mundo, existe sustancialmente un mayor riesgo de infección ⁽¹³⁾⁽¹⁸⁾⁽²³⁾. Casi todas las aves pueden estar infectadas; el número de microorganismos puede ser bajo en un principio y aumentar como resultado del manejo ⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾. Los huevos se pueden contaminar por transmisión vertical (transovárica), durante la postura o durante la manipulación o el almacenamiento. La infección en los seres humanos se adquiere por consumo de pollo, huevo crudo o parcialmente cocido, o alimentos preparados con estos ⁽²⁵⁾⁽²⁸⁾.

La detección y control de brotes de salmonelosis transmitidas por alimentos es complicada por el hecho de que existen más de 2000 serotipos diferentes de esta bacteria, tanto las especies que causan infecciones gastrointestinales como las que producen fiebres entéricas son objeto de vigilancia^{(3),(13)}. La caracterización y tipificación definitiva de los aislamientos

es de utilidad en el estudio epidemiológico para identificar tendencias, detectar brotes, fuentes de infección e implementar medidas de control.

En el Perú, año a año el consumo de aves, se incrementa notablemente, en comparación al consumo de otros tipos de carnes, éstas aves a su vez representan el reservorio de mayor importancia para bacterias como *Salmonella*, uno de los microorganismos causante de enfermedades diarreicas más frecuentes en el hombre, Sin embargo, en el país el sistema de vigilancia epidemiológica para aves que controla el número de casos y reportes de enfermedades como salmonelosis no le presta la debida importancia y a poblaciones pequeñas, donde también se pueden presentar casos de esta enfermedad en animales y posteriormente en humanos, faltando afianzar el desarrollo de su sistema de información capaz de integrar y comunicar a los niveles central, regional y local; lo que conlleva a que los énfasis que requiere reportes de *Salmonella* spp. en animales (aves de corral), aun no sean suficientes, siendo un problema latente debido a que pueden aparecer ciertos brotes de salmonelosis que no se puedan detectar justamente por la falta de información ⁽²⁹⁾.

La región iqueña no está exenta de esta problemática, y más aún cuando la crianza artesanal de gallinas es considerada como una buena alternativa para la producción familiar, rápida y permanente, de alimentos de origen animal (huevos y carne); sin embargo las condiciones higiénico sanitarias en las que son criadas estas aves, así como la distribución no adecuada de

crianza de animales, evidencian posibles riesgos de propagación de este agente bacteriano, y más aún en aquellos lugares donde no existe un monitoreo periódico de este patógeno, por ello la investigación realizada tuvo como objetivo determinar la presencia de *Salmonella* spp. en gallinas de corral, de los cinco centros poblados más habitados del distrito de Santiago, por ser este, uno de los distritos que se dedica a la crianza artesanal de aves para su propio consumo y a la vez registra más casos de enfermedades transmitidas por alimentos; estos brotes son causados por contaminación con productos de consumo casero, de quedar identificado el microorganismo, se pueden tomar medidas para reducir las deficiencias sanitarias en las casas, caseríos, minigranjas, etc. que consumen este tipo de productos cárnicos, evitando así, riesgos de enfermedad que en algunos casos puede conllevar a la muerte ⁽¹⁾⁽⁶⁾⁽¹⁴⁾⁽²¹⁾.

II. ANTECEDENTES

Se puede citar los siguientes estudios de investigación:

A nivel internacional

- **García y cols. (1996)**, en México, publicaron una investigación sobre determinación de *Salmonella enteritidis* serotipo Enteritidis a partir de 95 aislamientos de Salmonellas provenientes de brotes de campos de aves domésticas, demostrándose que el 78,95% fueron positivas a la identificación de *Salmonella enteritidis* Serotipo E, de las cuales el 2,1% fueron positivos a acriflavina (cepas rugosas) y el 76,84% fueron negativas a acriflavina (cepas lisas). El 21,05% fueron negativas a la identificación de *Salmonella enteritidis* Serotipo E, y ninguna cepa fue positiva a la aglutinación con SSF.
- **La Torre y cols. (2003)**, en Chile, realizaron un estudio sobre detección de *Salmonella* spp. en crianza artesanal de gallinas autóctonas chilenas, donde fue posible detectar Salmonella en 17 de las 320 muestras tomadas desde sistemas de crianza artesanal de aves de postura, lo cual determina una prevalencia general de 5,31%. Al interior de cada uno de los sistemas productivos, fue posible determinar prevalencias de un 4,6% en el predio N° 1; 6% en el predio N° 2; 0% en los predios N° 3 – 4 y 10; y un 1%, 9%, 4,5%, 5% y 5,7% en los predios N° 5 - 6 - 7 - 8 y 9, respectivamente.

- **Pérez y cols. (2004)**, en Venezuela, publicaron una investigación sobre aislamiento de *Salmonella* en canales de aves y evaluación de la efectividad de diferentes medios de enriquecimiento y selectivo, confirmando la presencia de *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium en los canales de aves, a su vez el mayor porcentaje de aislamiento ocurrió cuando se utilizaron los medios Xylosa Lisina Desoxicolato (XLD) y Bismuto Sulfito Agar (BSA). El medio Caldo Tetracionato (CT), resultó en mayores porcentajes de aislamientos que el medio Caldo Selenito Cistina (CS).
- **Uribe y Suárez (2006)**, en Colombia, publicaron un trabajo de investigación sobre salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar, realizando una compilación sistemática de información referida a la gastroenteritis y otras manifestaciones causadas por serovariedades no tíficas de *Salmonella* spp., con énfasis en la importancia de los alimentos de origen aviar en su transmisión.
- **Troncoso (2007)**, en Chile, hizo un trabajo de investigación para detectar la presencia de *Salmonella* spp. en los sistemas artesanales de crianza de gallinas de la Provincia de Ñuble (Chile), mediante técnicas de cultivo microbiológico, donde se tomaron 1099 muestras totales, correspondientes a tórculas cloacales, huevos y medioambientales, la detección de *Salmonella* spp. correspondió a 8 muestras (0,72%), todas ellas medioambientales. Así mismo se detectó una diferencia

estadísticamente significativa ($p < 0,01$) entre los distintos tipos de muestras analizadas (muestras ambientales, tómulas cloacales y huevos).

- **García y cols. (2009)**, en España, realizaron un estudio sobre la evaluación de *Salmonella* spp. en las heces, hisopos cloacales, y los huevos (cáscara de huevo y el contenido por separado) de una granja de gallinas ponedoras, donde los resultados demostraron que las heces (92%) fueron las muestras más positivas, seguido de cáscaras de huevo (34%) e hisopos cloacales (4%). No se detectaron *Salmonella* spp. en el contenido del huevo; lo cual no implica la presencia del patógeno en el contenido del huevo.
- **Álvarez y col. (2012)**, en Paraguay, determinaron la frecuencia de *Salmonella enterica* en aves de traspatio de la localidad de San Lorenzo, Departamento Central, República de Paraguay, aislando 11 (2,75%) cepas de *Salmonella enterica*, 8 (2%) identificadas como *Salmonella* Enteritidis, 2 (0,5%) de *Salmonella* Schwarzengrund y 1 (0,25%) *Salmonella* Saintpaul, siendo *Salmonella* Enteritidis la serovariedad con mayor número de aislamientos y la más frecuente en aves de traspatio de San Lorenzo.

A nivel nacional:

- **Arechua y Moya (2004)**, en Lima, realizaron una tesis sobre evaluación de riesgos microbianos en alimentos preparados consumidos en la población de Villa El Salvador, lográndose aislar 2 muestras con

Salmonella de un total de 75, lo cual representó el 3% de las muestras analizadas que estuvieron contaminadas, indicando así la presencia de un peligro de que se produzcan enfermedades alimentarias causadas por *Salmonella* sp.

- **Zambrano (2012)**, en Lima, llevó a cabo una investigación sobre determinación de *Salmonella* spp. en centros de beneficio clandestino de aves de Lima Metropolitana, encontrando positivas al 21,3% de muestras de superficie corporal y el 28,8 % para hisopado cloacal, en centros de beneficio sin eviscerar, no obstante se reportó el 25,6% en muestras de superficie corporal y 35,6% en centros de beneficios donde si se realizaba el eviscerado, concluyendo la presencia de *Salmonella* spp. en los centros de beneficios clandestino de Lima Metropolitana.

A nivel local:

En el Departamento de Ica, son muy pocas las investigaciones de Salmonella en alimentos:

- **Arcos y García (1994)**, en Ica, realizaron una investigación sobre presencia de *Salmonella* spp. en huevos de gallina y mercados del mercado de Ica – 1994, determinándose que los huevos frescos de gallina y productos preparados a base de huevos crudos presentan cierto grado de contaminación con Salmonella, aislándose en mayor porcentaje *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Duesseldorf, los huevos de gallina presentaron un 90% de conservación regular a diferencia de

las mayonesas (58% de conservación regular) y similar nivel de conservación con los jugos (81% de conservación regular).

- **Ochoa y Trejo (2012)**, en Ica, realizaron un estudio sobre determinación de *Salmonella* sp. en canales de pollo expendidos en el Mercado Arenales del Distrito de Ica, llegando a aislar 5 cepas correspondientes al género *Salmonella* de un total de 50 muestras, de las cuales, 3 (6%) pertenecieron a *Salmonella* Infantis y 2 (4%) a *Salmonella* Typhimurium, concluyendo que existe presencia de *Salmonella* en el mercado Arenales, representando así un riesgo potencial para población consumidora.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL

3.1.1. Ubicación geográfica

El área de estudio comprende los 5 centros poblados del distrito de Santiago: Lujaraja, Santiago (cercado), Casa Blanca, La Joya y La Venta Baja, provincia y departamento de Ica, los mismos que se ubican en Carretera Panamericana Sur, comprendiendo del Km. 318 al Km. 329. (Anexos; Figura 2).

3.1.2. Población

Constituida por gallinas de crianza artesanal del distrito de Santiago.

3.1.3. Muestra.

Las muestras estuvieron constituidas por materia fecal (heces) de gallinas de corral, procedentes de crianza artesanal, de los Centros Poblados: Casa Blanca, La Joya, Lujaraja, La Venta Baja y cercado del Distrito de Santiago, Provincia y Departamento de Ica, durante los meses de Setiembre 2012 – Enero 2013. (Anexos; Figura 1, A - E).

- Criterios de inclusión: Fueron consideradas dentro del estudio todas las gallinas que cumplieron con los siguientes criterios:

- Gallinas sanas.

- Gallinas adultas mayores de 12 semanas.
 - Viviendas cuyo corral cuenten con un mínimo 3 gallinas.
 - Residentes en algunos de los 5 centros poblados de Santiago: Lujaraja, Santiago (cercado), Casa Blanca, La Joya, La Venta Baja.
- Criterios de exclusión: En principio, excluidas todas las gallinas que no cumplan los criterios de inclusión mencionados, además de:
- Gallinas enfermas.
 - Gallinas menores a 12 semanas.
 - Residentes en algún centro poblado ajeno de los indicados.
 - Gallinas de granjas.

3.2. MÉTODO:

3.2.1. Muestreo.

El muestreo se realizó mediante hisopados cloacales (PRO-UCDSA-06, SENASA) (Anexos; Figura 3)⁽²²⁾⁽²³⁾, en gallinas de corral, tomando el 2,80% de viviendas que crían aves (Anexos; Figura 4); de los centros poblados antes mencionados del Distrito de Santiago – Ica ⁽⁹⁾, obteniendo 16 muestras mensuales tomadas al azar, por 5 meses consecutivos.

3.2.2. Obtención de la muestra biológica.

De cada corral de aves, se cogió al azar una gallina, tomando una muestra de heces mediante la técnica del hisopado cloacal ⁽²³⁾ con hisopo estéril, previamente humedecido en tubos con 9 mL de agua peptonada bufferada al 0,1% (Anexos; Figura 5, A-B). Una vez tomada la muestra se volvió a sumergir los hisopos en los tubos para su debido transporte a laboratorio ⁽²⁶⁾.

Las muestras obtenidas fueron colectadas y rotuladas, siendo conservadas en cadena de frío para su traslado al laboratorio ⁽¹⁴⁾⁽²³⁾ (Anexos; Figura 5, C).

3.2.3. Procesamiento de la muestra.

Se realizó en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga” de Ica, de acuerdo al método de la Norma ISO 6579:2002 (International Organization for Standardization) ⁽¹⁰⁾ (Anexos; Figura 6).

3.2.3.1. Pre enriquecimiento

Una vez obtenida la muestra de materia fecal mediante el hisopado en los tubos con agua peptonada bufferada al 0,1%, se llevó a incubación a una temperatura de 35 – 37°C, por 18 +/- 2 horas ⁽¹⁰⁾ (Anexos; Figura 7, A).

3.2.3.2. Enriquecimiento

Caldo Rappaport Vassiliadis con soya (RVS)

A partir del cultivo incubado se tomó 0,1 mL. de cada muestra, los cuales fueron transferidos a los tubos con 10 mL. de caldo Rappaport Vassiliadis con soya. Continuando con la incubación por 24 +/- 3 horas a $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ⁽¹⁰⁾ (Anexos; Figura 7, B).

Caldo Müller – Kauffmann tetrionato + novobiocina (MKTTn)

A partir del cultivo incubado se tomó 1 mL. de cada muestra, las mismas que fueron inoculadas en tubos con 10 mL. de caldo Müller – Kauffmann tetrionato + novobiocina, continuando con la incubación por 24 +/- 3 horas a $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ⁽¹⁰⁾ (Anexos; Figura 7, C).

3.2.4. Aislamiento Selectivo

De cada caldo de enriquecimiento, se tomó una asada del inóculo y se sembró en placas con agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) y agar verde brillante (VBA) por duplicado (Siembra por estría y agotamiento), dejándose incubar a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 +/- 3 horas ⁽¹⁰⁾⁽¹²⁾⁽¹⁴⁾⁽²¹⁾.

3.2.5. Identificación:

3.2.5.1. Estudio de características fenotípicas

Posterior a la incubación, se analizaron las características fenotípicas (forma, color, textura, tamaño) de las colonias desarrolladas sobre el medio selectivo, (agar XLD y agar verde brillante). Se consideraron como colonias típicas de Salmonella aquellas que presentaron en agar XLD: color rojo con o sin centro negro, o transparente con punto negro, (Anexos; Figura 8, A); en el agar verde brillante fueron consideradas aquellas que tenían borde irregular, color fucsia, rosado, incoloras, traslúcidas ⁽¹⁰⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾ (Anexos; Figura 8, B).

3.2.5.2. Pruebas bioquímicas

Prueba TSI y LIA

Se inoculó 01 colonia típica en cada prueba: En agar TSI: se realizó 1 punción, seguido de realizar la estría en el pico de flauta; En agar LIA, se realizó 1 punción picando el fondo y haciendo estrías en la superficie, ambos medios se incubaron a 35 – 37°C por 24 hrs. Se consideraron los cultivos que mostraron en el agar TSI pico de flauta alcalino, las columnas de medio, con o

sin producción de SH₂ y el fondo alcalino. (Anexos; Figura 9, A-B).

En agar LIA se consideró las reacciones alcalina en todo el medio, con o sin producción de SH₂ (Anexos; Figura 9, A-B) ⁽¹⁾ ⁽¹⁰⁾.

Prueba de citrato

Se inoculó en agar citrato Simmons a partir del cultivo proveniente de agar TSI con pico de flauta y fondo alcalino, sembrando por estría y haciendo puntura en el fondo. Se incubó por 96 +/- 2 hrs. a 37°C. Se consideró los cultivos que mostraron crecimiento en el medio y/o acompañado por viraje de color verde al azul, indicando la utilización del citrato como sustrato ⁽¹⁰⁾⁽¹⁴⁾ (Anexos; Figura 9, C-D).

Prueba en medio SIM

A partir del TSI, se inoculó una asada por punción en el medio SIM. Se incubó por 24 +/- 2 hrs. a 37°C considerando las reacciones positivas para la producción de sulfuro de hidrógeno, reacción negativa del indol (no se forma un anillo en la superficie al adicionarse el reactivo de Kovac's; así también se

consideró la motilidad, típica de *Salmonella* ⁽⁵⁾⁽¹⁷⁾ (Anexos; Figura 9, C-D).

Prueba de ureasa

Se inoculó en el agar urea a partir del cultivo proveniente del agar TSI, sembrando por estría en la superficie. Se incubó a 24 +/- 2 hrs. A 37°C, se consideró los cultivos que dieron la prueba negativa (ningún viraje en color del medio), indicando que la bacteria no hidrolizó la urea ⁽¹⁰⁾⁽¹⁴⁾ (Anexos; Figura 9, E).

Las cepas que presentaron características bioquímicas pertenecientes al género *Salmonella* se sembraron en agar nutritivo, para posteriores pruebas confirmatorias de *Salmonella*.

3.2.5.3. Pruebas serológicas

La identificación de las serovariedades de *Salmonella*, fue realizada por los autores, en el Laboratorio de Enteropatógenos del Instituto Nacional de Salud, siguiendo la metodología de Carlos Malbrán, con emisión de informes de los resultados por dicha institución ⁽⁵⁾⁽¹⁰⁾⁽¹⁴⁾ (Anexos; Figura 10, 12 y 15).

- **Serotipificación Somática O.**

La reacción antígeno - anticuerpo para la caracterización del serogrupo O de *Salmonella* sp. se realizó mediante la técnica de aglutinación en lámina, (Anexos; Figura 11, A); a partir de cultivos de menos de 24 hrs. en agar TSA, incubado a 37°C ⁽⁵⁾⁽¹⁰⁾⁽¹⁴⁾.

Previamente se verificó si la cepa que se encontraba en forma lisa (S) o rugosa (R), para lo cual se mezcló una porción de la colonia con solución salina, al 2% en una lámina, rotando suavemente durante 30 segundos (Anexos; Figura 11, B).

Luego, se observó cuidadosamente la presencia o ausencia de aglutinación con la solución salina, ya que si hay grumos la cepa está en su forma R y no se puede realizar la serotipificación somática O (Anexos; Figura 11, C-D). A las cepas que se encontraban en forma R, se les realizó sucesivos subcultivos en agar TSA, para revertirlas a la forma S. La serotipificación somática se realizó solo para las cepas que se encontraron en forma lisa. (Anexos; 11, B). Sobre una lámina de vidrio se enfrentó un cultivo con fase S con una gota de los antisueros polivalentes OS-A y OS-B (dentro de los cuales se encuentran alrededor del 98% de las serovariedades aisladas del hombre y de los

animales) por separado, mezclando cuidadosamente con un palillo (Anexos; 11, C). Se realizaron movimientos rotatorios por 2 minutos para favorecer la reacción antígeno anticuerpo donde se observó la presencia o ausencia con luz indirecta. De haber aglutinación con alguno de los dos antisueros polivalentes, se probaron los antisueros del grupo O correspondientes; si hay aglutinación con un antisuero del grupo O se probaron los antisueros de factores O correspondientes (Anexos; 11, D).

- **Serotipificación Flagelar**

La caracterización antigénica flagelar, se hizo mediante la técnica de aglutinación en tubo (Anexos; Figura 13, C). En donde las cepas fueron sembradas, a partir de un cultivo de TSA, en 5 mL del medio de movilidad conteniendo un tubo Craigie ⁽⁵⁾⁽¹⁰⁾⁽¹⁴⁾ (Anexos; Figura 13, A-B). La siembra fue realizada en el interior del tubo Craigie, hasta la mitad del mismo, al cabo de 18 a 24 hrs. de incubación a 37°C, se tomó una porción del crecimiento del tubo externo y fue sembrado en 5 mL de caldo flagelar incubado a 37°C durante 24 hrs. (Anexos; Figura 13, A-B). Posteriormente se le adicionó 5 mL. de solución salina formolada al 1% y se dejó por

una hora a temperatura ambiente. En cuatro tubos de ensayo estériles se agregaron 0,5 mL de la suspensión bacteriana formolada y se le adicionó una gota de cada uno de los antisueros flagelares polivalentes, HS-1, HS-A, HS-B y HS-C (Anexos; Figura 13, C). Se incubó a 50°C en baño maría y se observó cada 15 minutos durante 1 hora la formación o no de floculaciones con luz indirecta. Si el cultivo aglutinó con dos antisueros polivalentes, se trató de una serovariedad difásica y se enfrentó seguidamente con los antisueros de la primera y segunda fase H correspondientes, (Anexos; Figura 13, E). Si el cultivo aglutinó solo con un suero polivalente antiflagelar, puede ser que se trató de una variedad monofásica de acuerdo al esquema de Kauffmann-White ⁽⁵⁾⁽¹⁰⁾⁽¹⁴⁾, o una difásica que no expresa los antígenos flagelares de la segunda fase H, para lo cual se realizó una inversión de fase. Para poner en evidencia la fase ausente se mezcló en una placa Petri, dos gotas del antisuero flagelar correspondiente a la fase expresada con 10 mL del medio Jordans, se sembró una asada del cultivo sin formolar en el centro de la placa (Anexos; Figura 13, D), después de la incubación a 37°C durante 24 hrs se tomó el desarrollo microbiano de la periferie de la placa

para enfrentarlo al antisuero de la fase H no expresada. El método se basó en que las células que poseían la fase ya identificada quedaban inmovilizadas por el suero flagelar empleado, mientras las que tenían la fase no expresada conservan su movilidad. La identificación de serovares se determinó siguiendo el esquema de Kauffmann – White descrito por World Health Organization, Centre For Reference And Research on Salmonella en su publicación Antigenic Formulas of the *Salmonella* serovars ⁽⁵⁾⁽¹⁰⁾⁽¹⁸⁾⁽²⁷⁾ (Anexos; Figura 14, A-B).

3.2.6. Expresión de resultados

Los resultados obtenidos en la investigación fueron expresados mediante tablas porcentuales, a su vez, se aplicó diseños estadísticos como prueba de significancia para la validación de resultados de las muestras positivas a salmonella, usando fórmulas y diagramas representativos (Anexos; Figura 16).

$$Z = \frac{p - \pi}{\sqrt{\frac{\pi (1 - \pi)}{n}}}$$

Así mismo, se evaluó los riesgos por exposición a Salmonella mediante tabla de diferencia porcentual, entre cinco centros poblados del distrito de Santiago.

III. RESULTADOS

TABLA N° 1. Porcentaje de aislamientos de *Salmonella* spp. en hisopados cloacales de gallinas de corral del distrito de Santiago - Ica. Setiembre 2012 – Enero 2013.

DISTRITO	ESTUDIO DE		
	CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS	BIOQUÍMICA	SEROTIPIFICACIÓN
SANTIAGO	36	5	4
PORCENTAJE (%)	100	13,9	11,1

De las 80 muestras de hisopados cloacales de gallina, se logró obtener 36 (100%) aislamientos con características fenotípicas similares a *Salmonella*, de estos aislamientos 5 (13,9%) presentaban características bioquímicas similares a *Salmonella*, de las cuales 4 (11,1%) presentaban características coincidentes en un 100% a *Salmonella* según el sistema de serotipificación.

TABLA N° 2. Especies de Salmonella determinados mediante serotipificación en hisopados cloacales de gallinas de corral en el distrito de Santiago – Ica. Setiembre 2012 – Enero 2013.

Especie	N° de muestras (serotipificación)	Porcentaje (%)
<i>Salmonella Typhimurium</i>	04	05
<i>Citrobacter freundii</i>	01	01
Negativo	75	94
TOTAL	80	100

De las 80 (100%) muestras procesadas de hisopados cloacales de gallinas del distrito de Santiago, 4 (5%) aislamientos correspondieron a *Salmonella Typhimurium* mediante proceso de serotipificación.

TABLA N° 3. Prueba de significancia de muestras positivas de Salmonella en hisopados cloacales de gallinas de corral en el distrito de Santiago – Ica. Setiembre 2012 – Enero 2013.

Distrito	N° de muestras	N° de muestras positivas a <i>Salmonella</i> spp.	Proporción de éxito	Zc	Probabilidad
Santiago					
(5 principales centros poblados)	80	4	0,05	13,91	0,05

El aislamiento de *Salmonella* spp. En 4 muestras de hisopados cloacales representa una proporción de 0,05 (5%) ($P \leq 0,05$) (Anexos; Figura 16), así se obtuvo un valor de 13,91 para Z calculado, a un nivel de significancia de 0,05; se demuestra que *Salmonella* spp. tiene presencia significativa en gallinas de corral del distrito de Santiago.

TABLA N° 4. Diferencia porcentual entre los centros poblados con muestras positivas para Salmonella mediante serotipificación en hisopados cloacales de gallinas de corral en el distrito de Santiago – Ica. Setiembre 2012 – Enero 2013.

CEPAS AISLADAS	CENTRO POBLADO					TOTAL
	Santiago (cercado)	Casa Blanca	La Venta Baja	Lujaraja	La Joya	
Serotipificación	1	2	1	0	0	4
PORCENTAJE (%)	25	50	25	0	0	100

De los 5 centros poblados muestreados, Casa Blanca presenta mayor porcentaje de cepas de Salmonella 02 (50%), seguido por Santiago – Cercado y La Venta Baja con 01 (25%) cada una respectivamente; para los centros poblados Lujaraja y La Joya, Salmonella se reporta: ausente (0%).

IV. DISCUSIÓN

La salmonelosis es la principal causa de enfermedades de origen alimentario, así también, año a año el consumo de aves se incrementa notablemente, en comparación al consumo de otros tipos de carnes, éstas aves a su vez representan el reservorio de mayor importancia para bacterias como *Salmonella* ⁽³⁾⁽¹³⁾.

Las serovariedades de *Salmonella*, presentan una amplia distribución en el ambiente. Se ha aislado a partir de diversas fuentes incluyendo suelo, vegetación, ensilaje, materia fecal, fuentes de agua, aguas residuales y distintos tipos de alimentos, principalmente los de origen aviar, representando un gran problema para su control y vigilancia.

En el presente estudio, de 80 muestras de hisopados cloacales analizados por el método oficial, según la ISO 6579:2002, se obtuvieron 36 muestras de colonias con características fenotípicas de *Salmonella*; de las cuales 05 (13,9%) correspondieron a *Salmonella* sp. según caracterización bioquímica; similares a Pérez y cols. (2004) Troncoso (2004); Zambrano (2012); de estos aislamientos 4 (11,1%) pertenecen a *Salmonella* spp. por presentar características coincidentes en 100% según análisis serológicos (Tabla N° 1) ⁽¹⁰⁾⁽¹⁷⁾⁽²⁴⁾⁽²⁸⁾.

La serotipificación de las cepas determina a *Salmonella* Typhimurium (5%) como único serotipo hallado (Tabla N° 2); (Anexos, Figura 12); concordando con Ochoa y Trejo (2012), Pérez y cols. (2004), difiriendo con los estudios de García y cols. (1996); Álvarez y cols. (2012), quienes reportaron otros

serotipo como *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Saintpaul y *Salmonella* Schwarzengrund ⁽²⁾⁽⁸⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁷⁾.

La determinación de *Salmonella* Typhimurium (5%) (Anexos, Figura 13); es de interés, debido a que en los últimos registros del Sistema de Vigilancia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos en el Perú (ETAs), del Instituto Nacional de Salud (INS), éste serotipo ocupa el tercer lugar en serovariedades de *Salmonella*. Concordando con Ochoa y Trejo (2012), quienes también afirman que en el Perú, *Salmonella* Typhimurium ocupa los primeros lugares en frecuencia de enfermedades transmitidas por alimentos ⁽¹⁴⁾⁽³⁰⁾.

Se determinó *Salmonella* spp. en un 5% de un total de 80 muestras (Tabla N° 3), este resultado es similar a lo investigado por La Torre y cols. (2003); García y cols. (2009); Álvarez y cols. (2012); Arechua y Moya (2007); Ochoa y Trejo (2012), cuyos porcentajes de positividad a *Salmonella* sp. fluctúan entre el 2% y el 10%. Sin embargo, estos resultados difieren con Pérez y cols. (2004); Zambrano (2012); quienes registraron porcentajes de positividad de 23% y 28,8% respectivamente, en sus investigaciones realizadas en canales de pollos beneficiados, demostrando la diferencia que existe en el porcentaje de aves contaminadas vivas con las que han pasado por el proceso de sacrificio y evisceración ⁽²⁾⁽³⁾⁽⁷⁾⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁷⁾⁽²⁸⁾.

Para la validación de hipótesis se aplicó la prueba de distribución muestral de proporciones, lo que determinó que de las 80 muestras analizadas, resultó positivo para *Salmonella* sp. el 5 % ($P \leq 0,05$), lo cual no es aceptable de acuerdo a los criterios del Sistema de Vigilancia

Epidemiológico del Servicio Nacional de Sanidad Agraria SENASA para aves de traspatio, donde indica que *Salmonella* sp. se debe reportar como ausente; de acuerdo a lo expuesto, sí existe presencia de *Salmonella* sp. en el distrito de Santiago, esto es debido a diversas fuentes de contaminación, pero principalmente se asocia a la falta de limpieza de corrales, orden en la crianza y alimentación, lo cual conlleva a la propagación rápida entre aves, otros animales, pudiendo llegar a ser transmitidos al hombre ⁽⁸⁾.

Al comparar la diferencia de proporciones de los aislamientos encontrados, se determinó, que de los centros poblados del distrito de Santiago: Casa Blanca representa mayor riesgo de contaminación, con 02 (50%) serotipos de *Salmonella* sp, seguido por Santiago – Cercado y La Venta Baja con 01 (25%) cada una respectivamente y para los centros poblados Lujaraja y La Joya, *Salmonella* se reporta ausente (0%) (Tabla N° 4). No se han encontrado investigaciones que comparen 2 ó más zonas; sin embargo, queda demostrado que el centro poblado Casa Blanca está más expuesto a contaminación por salmonelosis, porque a pesar de ser el segundo centro poblado del distrito de Santiago con mayor población, las costumbres locales de crianza de aves de traspatio se mantienen, a diferencia de Santiago - Cercado, cuyo desarrollo urbano es más notable.

Por todo lo hallado, la población del distrito Santiago, se encuentra en riesgo de contraer enfermedades de transmisión alimentaria como salmonelosis, pues no se toman medidas higiénico-sanitarias en los corrales de crianza

artesanal, exponiendo no solo a los dueños de dichos corrales, sino también a la población aledaña que consume estas aves y sus productos derivados.

VI. CONCLUSIONES

De la investigación realizada se concluye lo siguiente:

1. De las 80 muestras de hisopados cloacales en gallinas de crianza artesanal, se aislaron 5 cepas con características bioquímicas correspondientes al género *Salmonella*.
2. Se identificó 4 cepas por métodos serológicos, pertenecientes a la serovariedad *Salmonella* Typhimurium y una a *Citrobacter freundii*.
3. Se determinó que *Salmonella* Typhimurium se encuentra en una proporción de 0,05 (5%) ($P \leq 0,05$); a un nivel de significancia de 0.05, donde se demuestra que existe presencia significativa de esta bacteria en gallinas de corral del distrito de Santiago.
4. Se estableció a Casa Blanca como el centro poblado más expuesto a Salmonelosis, por tener mayor porcentaje de cepas de *Salmonella* Typhimurium (50%); seguido de Santiago – Cercado y La Venta Baja (25%) respectivamente. En los centros poblados Lujaraja y La Joya, *Salmonella* sp. se reportó ausente (0%).

VI. RECOMENDACIONES

Se sugiere:

- Aplicación permanente de medidas higiénico-sanitarias en los corrales de crianza artesanal, salvaguardando la inocuidad alimentaria de los propios pobladores (consumidores); concientizando a los productores que crían estos animales, del riesgo que puede producir a la salud un mal manejo de crianza.
- Promover mayor asesoría y divulgación científica, resaltando la importancia de evitar patógenos como Salmonella en los alimentos.
- Implementar medidas de intervención relacionados con la educación de los propietarios de aves de traspatio, en los diferentes distritos de Ica.
- Establecer las bases para la elaboración de programas de control específicos para cada país, que permitan un estudio de enfoque completo desde la granja y corrales hasta la mesa.
- Cumplir con la realización de evaluaciones periódicas, por parte de las autoridades competentes, sobre este tipo de bacterias, teniendo en cuenta una toma de muestra más rigurosa para el caso de Salmonella.

VII. REFERENCIAS

1. ALVAREZ F, COPES J, ALVAREZ M, NUÑEZ L, SUSUKI K, GORETTI M, ZARATE N, CASTRO L, WEILER N, FACCIOLI M, y LEOTTA G. Frecuencia de *Salmonella enterica* en aves de traspatio de la Localidad de San Lorenzo, Departamento Central, República del Paraguay. Compend. Cienc. Vet 2012; 02 (01): 9 – 11.
2. ARCOS M, y GARCÍA D. *Salmonella* spp. en huevos de gallina, mayonesa y jugos en granjas y mercados del cercado de Ica – 1994. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Universidad Nacional “San Luis Gonzaga” de Ica. 1994.
3. ARECHUA J, y MOYA C. Evaluación de riesgos microbianos en alimentos preparados, consumidos en la población de Villa el Salvador. Peligro, *Salmonella* sp. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Lima. 2004.
4. BOSCAN L, ARZÁLLUS A, UGARTE C, SÁNCHEZ D, DÍAZ D, y WITTUM T. Aislamiento de Salmonellas de importancia zoonótica en vísceras de pollos beneficiados en el Estado Zulia. Venezuela. Rev. Cient. FCV-LUZ. 2005. XV(6): 576 – 582.
5. CAFFER M, TERRAGNO R, BRUNA S, y BINSZTEIN N. Manual de procedimientos para la caracterización de *Salmonella*; Parte I. Aislamiento, Identificación y

- Serotipificación. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Global Salm – Surv y CDC. Buenos Aires, Argentina. 2003.
6. DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD ICA DIRESA. Enfermedades sujetas a vigilancia. Oficina de Epidemiología. Ica. Boletín Epidemiológico N° 32. 2011.
 7. GARCÍA C, CATALÁ P, SORIANO J, TUDÓN L, BENÍTEZ V, ANDREU L, y GRANERO I. *Salmonella* spp. en heces, hisopos cloacales y huevos de gallinas ponedoras: Estudio preliminar. XLVI Symposium Científico de Avicultura. AECA. 2009.
 8. GARCÍA A, TÉLLEZ G, GARCÍA G, VALLADARES J, y URQUIZA O. Determinación de *Salmonella enteritidis* serotipo enteritidis a partir de 95 aislamientos de *Salmonella* sp. provenientes de brotes de campo de aves domésticas. México. Rev. Vet. México. 1996. 27(4): 343 – 345.
 9. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA E INFORMÁTICA. XI Censo de Población y Vivienda 2007. Ica – Centros Poblados.
 10. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the detection of *Salmonella* spp . Fourth edition 2002-07-15.
 11. LA TORRE A, LÓPEZ J, y GADICKE P. Detección de *Salmonella* spp. en crianzas artesanales de gallinas autóctonas chilenas. Chile. Revista IVEE. 2003. 10 (5): 13 - 17.

12. LÉVANO M, y LÓPEZ F. Evaluación de la presencia de *Salmonella* en huevos frescos utilizando el medio - xilosa - lisina tergitol 4 (XLT4). Perú. Rev. de Ciencia e Investigación UNMSM. 2001; 4 (1): 50 – 56.
13. MOLINA N, MILLÁN B, y ARAQUE M. Indicadores de calidad sanitaria y fenotipificación de *Salmonella enterica*, aislada de pollo crudo comercializado en el área urbana de Mérida. Venezuela. Revista Infectio. 2010; 14 (3): 174 – 185.
14. OCHOA J, y TREJO O. Determinación de *Salmonella* sp. en canales de pollo expendidos en el mercado Arenales del distrito de Ica, Noviembre 2011 – Mayo 2012. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Universidad Nacional “San Luis Gonzaga” de Ica. 2012.
15. PARRA M, DURANGO J, y MÁTTAR S. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. México. Rev. MVZ Córdoba. 2002; 7 (2): 187 – 200.
16. PERDOMO F, ORTIZ R, NÚÑEZ R, y CASTRO B. Prevalencia de Salmonelosis en avícolas tecnificadas de postura del departamento del Huila. Colombia. Rev. Facultad de Salud. 2010; 2 (1): 77 – 84.
17. PÉREZ C, RIVERA S, PIRELA D, RINCÓN H, MAVÁREZ Y, y ROMÁN R. Aislamiento de *Salmonella* en canales de aves y evaluación de la efectividad de diferentes medios de enriquecimiento y selectivos. Venezuela. Rev. Científica FCV – LUZ. 2004; 14 (2): 177 – 185.
18. POPOFF M, and MINOR L. Antigenic Formulas of the *Salmonella* Serovar. 8th Ed. WHO. Collaborating Centre for

Reference and Research on *Salmonella*, Institute Pasteur, Paris, France 2008.

19. PERILLA M. Manual de laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo en desarrollo. USA. Rev. de División de Enfermedades Bacterianas y Micóticas. 2003; 12 (3): 111 – 128.
20. RODRÍGUEZ A, ICOCHEA D, CALLE E, y NOÉ M. Estudio de inocuidad de *Salmonella enterica*, subespecie enterica serotipo enteritidis, var. Danyz, Lisina negativa en pollos parrilleros. Perú. Rev. Inv. Vet. Perú. 2006; 17 (1): 33-38.
21. RUÍZ B, SUÁREZ C, y URIBE C. Susceptibilidad antimicrobiana in vitro de cepas de *Salmonella* spp. en granjas de ponedoras comerciales del departamento de Antioquia. Colombia. Rev. Colomb. de Cienc. Pecuarias. 2006; 19 (3): 298 – 305.
22. SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA. D.S. N° 009 – 2007 – AG. Reglamento del Sistema Sanitario Avícola.
23. SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA. 2006. Procedimiento: Recolección y envío de Especímenes / muestras, y Exámenes solicitados a Laboratorio.
24. TRONCOSO L. Detección de *Salmonella* spp. en crías de gallinas de tipo artesanal de la provincia de Ñuble (Chile). [Tesis Doctoral]. Chile. Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Veterinarias. 2007.
25. URIBE C, y SUÁREZ M. Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. Colombia.

Rev. Científica de América Latina y El Caribe, España y Portugal. 2006. 37 (2): 151 – 158.

26. VARGAS O. Premisas básicas para la estructuración de un programa de monitoreo y plantillas de muestreo para *Salmonellas* aviares. En: Libro de Ponencias: Seminario sobre Salmonelosis Aviar. Río de Janeiro; Asociación Latinoamericana de Avicultura; 2011.p. 235 – 247.
27. WORLD HEALTH ORGANIZATION, CENTRE FOR REFERENCE AND RESEARCH ON SALMONELLA. 2007. Antigenic Formulae of the *Salmonella* serovars. WHO International Salmonella Center, Institut Pasteur, Paris.
28. ZAMBRANO H. Determinación de *Salmonella* spp. En centros de beneficio clandestino de aves de Lima Metropolitana. Lima Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario. 2012.
29. ZAMUDIO M, MEZA A, BAILÓN H, MARTÍNEZ J, y CAMPOS J. Experiencias en la vigilancia epidemiológica de agentes patógenos transmitidos por alimentos a través de electroforesis en campo pulsado (PFGE) en el Perú. Rev. Per. Med. Exp. Salud Pública. 2011. 28 (1): 128-35.
30. ZAMUDIO M, MEZA A, ARIAS I, LUNA M, VALENZUELA A, SEGOVIA E, y VILLANUEVA E. Vigilancia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos en el Perú. 2012. Boletín INS. Año: 5 – N° 18-19: 1(3)

IX. ANEXOS

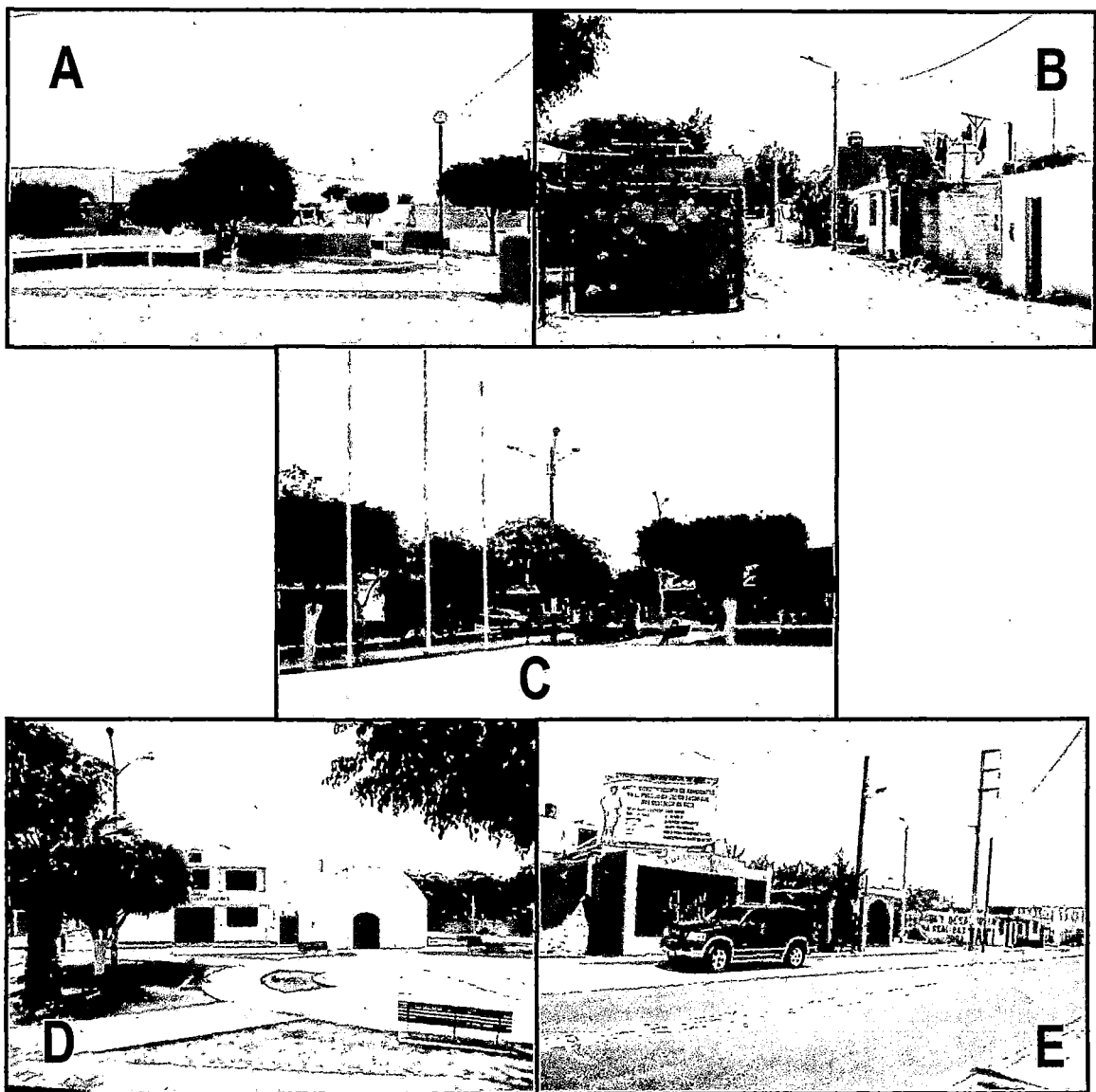



Figura 1. Zona de Muestreo: Centros Poblados Urbanos del Distrito de Santiago **A**, La Venta Baja. **B**, La Joya. **C**, Santiago (Cercado). **D**, Casa Blanca. **E**, Lujaraja

Figura 2. Mapa de Distribución de Muestreo en los Centros Poblados Urbanos del Distrito de Santiago.

	OFICINA DE CENTROS DE DIAGNOSTICO Y PRODUCCIÓN	Unidad del Centro de Diagnóstico de Sanidad Animal PRO-UCDSA-06	
	PROCEDIMIENTO: RECOLECCION Y ENVIO DE ESPECIMENES/MUESTRAS, Y EXAMENES SOLICITADOS AL LABORATORIO.	Revisión: 03	Página: 7 de 29

b. Heces

Se utilizan al menos 10 g de heces recién evacuadas, enviándolas con o sin medio de transporte. Las heces para análisis parasitológico se llenan por completo el recipiente y se envían con refrigeración para impedir la eclosión de los huevos de los parásitos, debiendo llegar al laboratorio antes de transcurridas 24 horas. Se utilizan frascos con tapa de rosca o bolsas de plástico para el transporte. Se evita el uso de tubos con tapón de goma, pues el gas que se genera puede expulsar el tapón del tubo destruyendo así la integridad de la muestra y contaminando otras muestras del mismo paquete. Un método alternativo y a menudo preferible consiste en tomar muestras del recto (o cloaca), procurando arrastrar la superficie mucosa. Los hisopos deben ser visiblemente cubiertos de materia fecal; sin embargo las muestras recogidas con hisopos no suelen ser adecuadas para el análisis parasitológico. Se tiene cuidado al tomar muestras de animales pequeños y

Cualquier copia impresa de este documento se considera **COPIA NO CONTROLADA**

Figura 3. Técnica de muestreo: Hisopado cloacal, establecido por SENASA, de acuerdo a la PRO – UCDSA - 06

		Población Censal	N° Viviendas	
110111	Dist. SANTIAGO	23,657	6,319	
CENTRO POBLADO URBANO		16,635	4,222	
0001	SANTIAGO	6,891	1,742	378
0004	LUJARAJA	1,274	377	397
0015	HUANACO	471	158	365
0016	CASA BLANCA	3,027	957	376
0029	LA JOYA	1,672	407	349
0035	LA VENTA BAJA (LA VENTA)	2,401	541	315

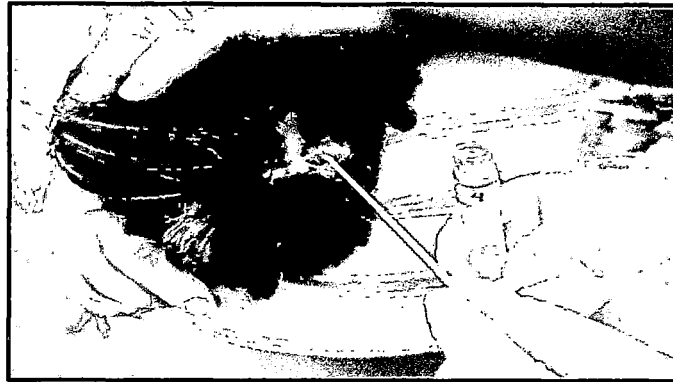
-1322-

Figura 4. Ficha del INEI (Censo de Población y Vivienda 2007 – Distrito de Santiago – Centros Poblados

A.



B.



C.

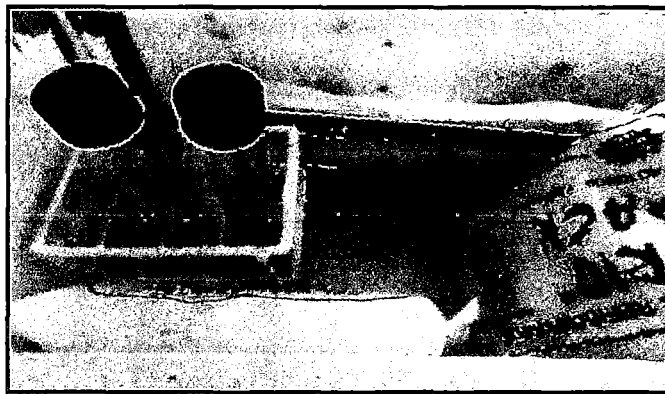


Figura 5. Procedimiento de muestreo. **A**, Gallina seleccionada tomada al azar de una vivienda. **B**, Técnica de obtención de la muestra (Hisopado cloacal). **C**, las muestras fueron colectadas en tubos con agua peptonada bufferada al 0,1% y conservadas en cadena de frío.

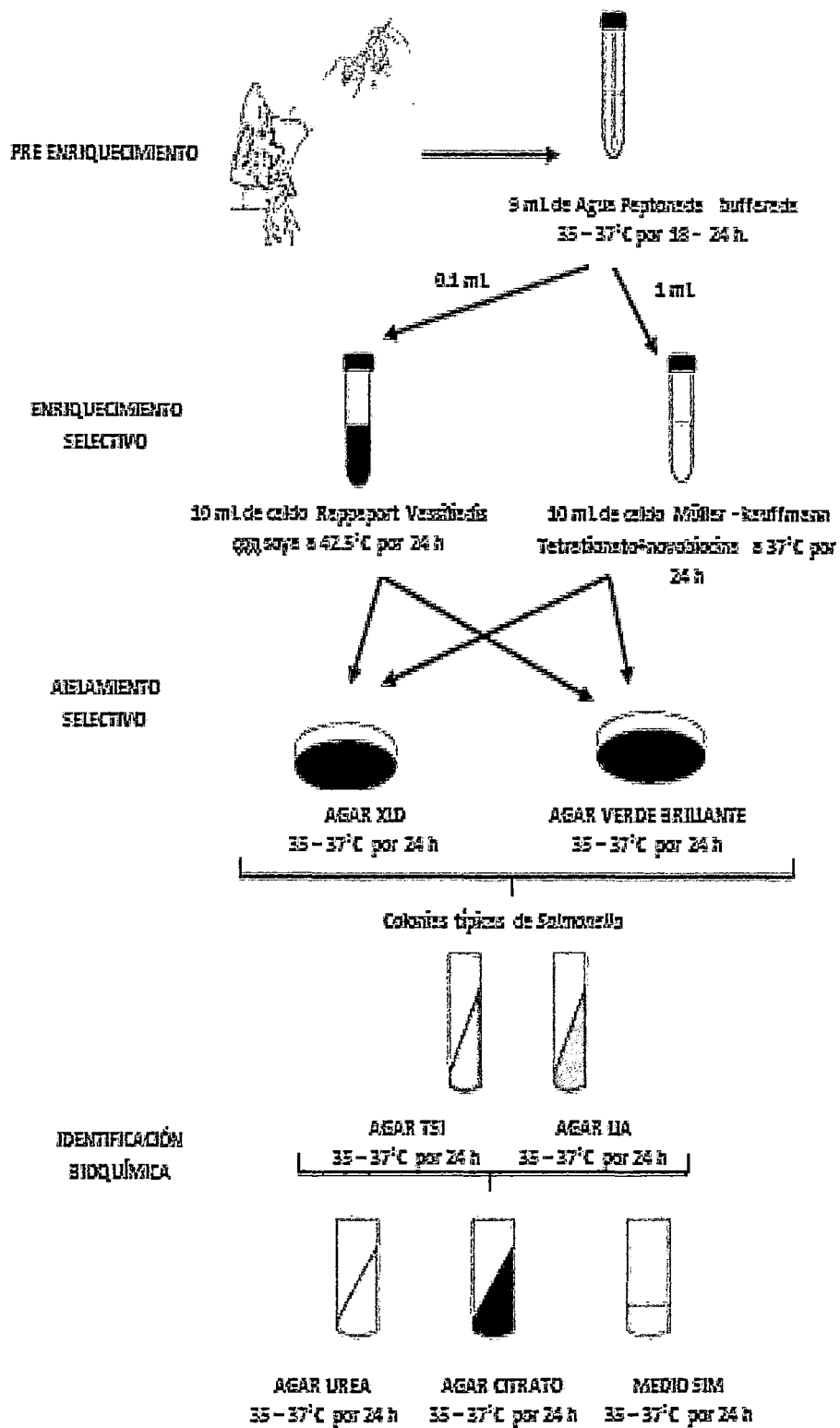
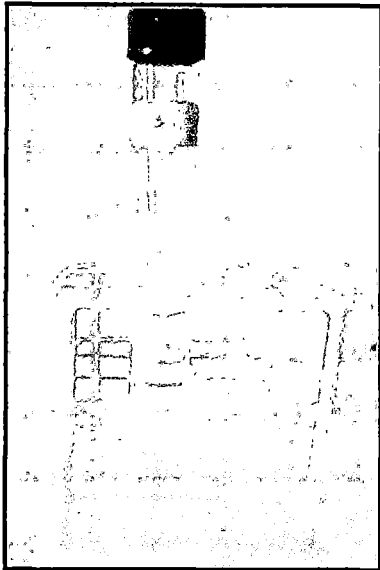
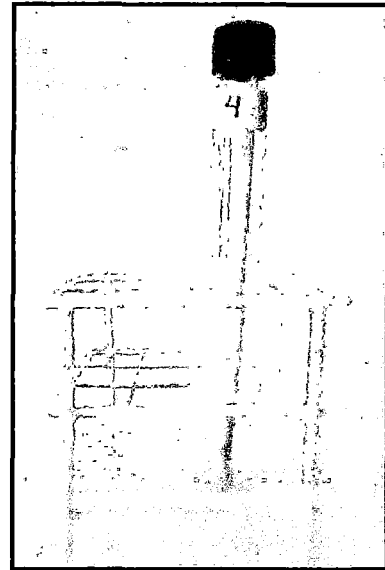


Figura 6. Flujograma del método descrito por la ISO 6579: 2002 para la detección de *Salmonella* spp.

A.



B.



C.



D.

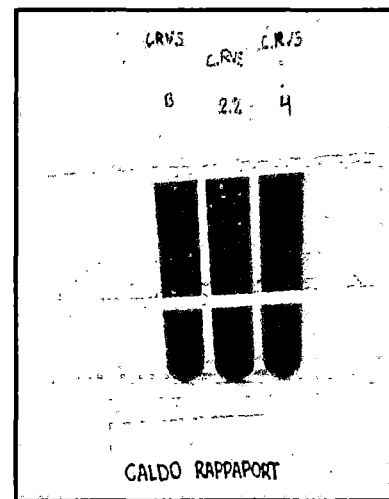


Figura 7. Enriquecimiento de las muestras. **A,** Pre-enriquecimiento en Agua Peptonada Bufferada al 0,1%. **B,** Enriquecimiento selectivo en Caldo Rappaport. Vassiliadis. Tubos: B (blanco); 2, 2.1, inoculados. **C,** Enriquecimiento selectivo en Caldo Tetracionato. Tubos: B (blanco); 2, 2, 4, inoculados

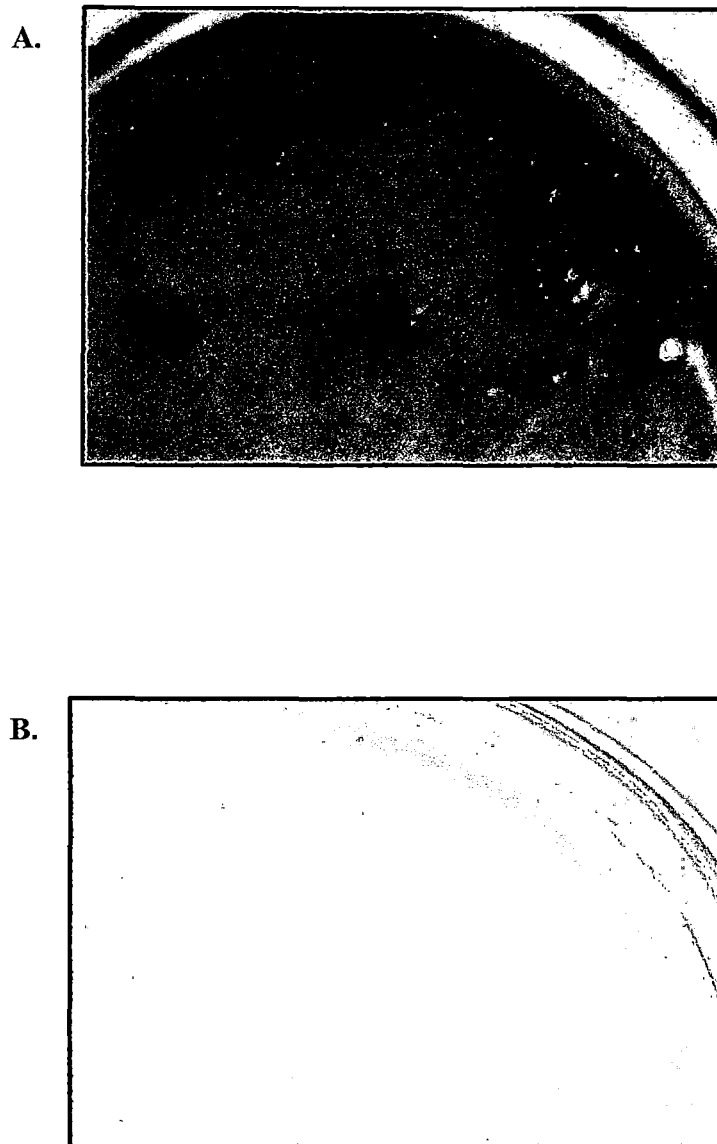


Figura 8. Características fenotípicas de *Salmonella* en medios de aislamiento selectivo. **A**, Agar xilosa lisina desoxicolato (XLD). **B**, Agar verde brillante (VBA).

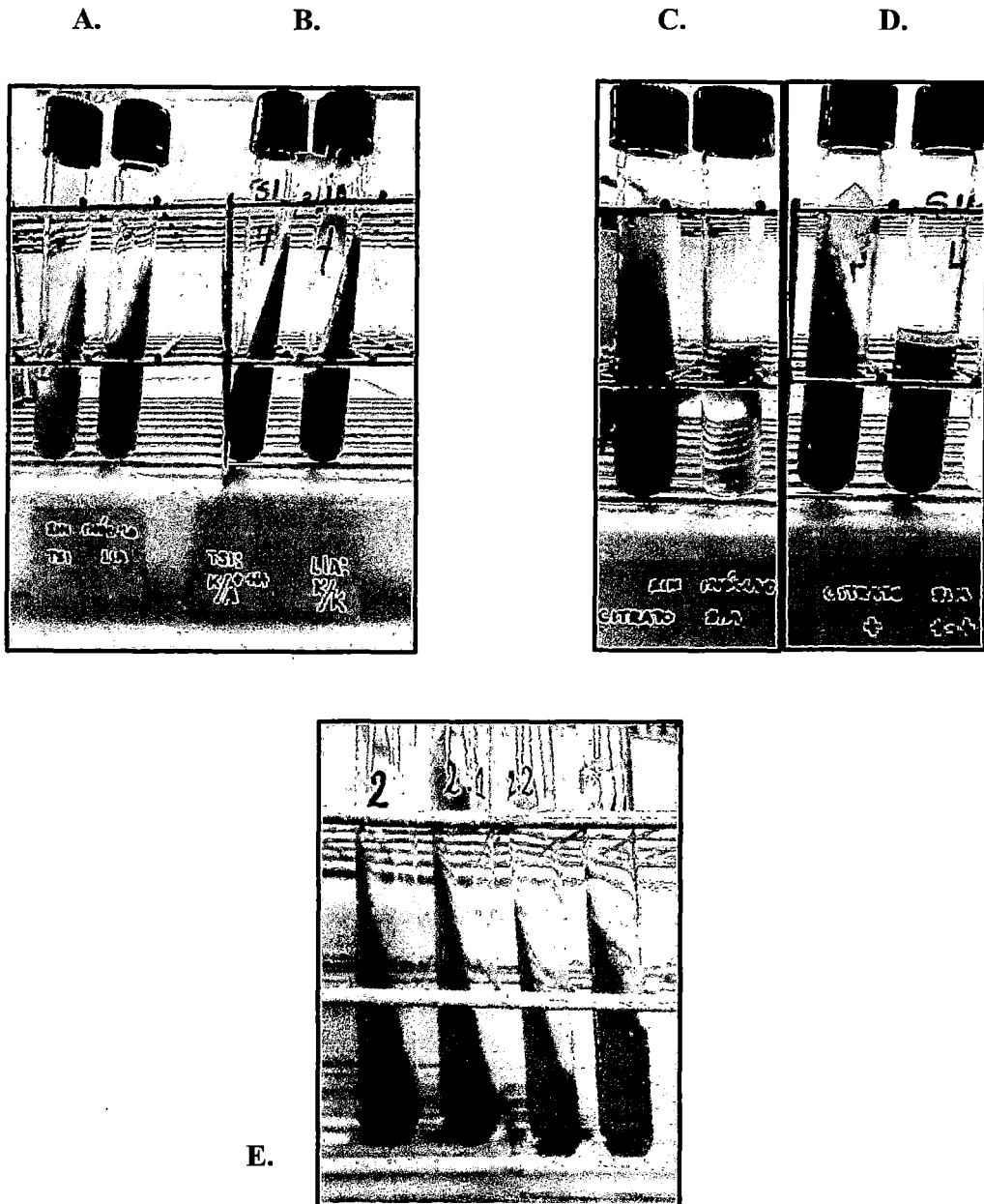


Figura 9. Características bioquímicas pertenecientes al género *Salmonella*. **A**, Agar TSI y LIA sin inocular (Blanco) **B**, Agar TSI y LIA, inoculados; reacciones positivas a *Salmonella* **C**, Agar citrato Simmons y medio SIM sin inocular. **D**, Agar citrato Simmons y medio SIM inoculados: Citrato (+) reacción positiva a *Salmonella*; medio SIM: (+) Sulfuro de Hidrógeno; (-) Indol; (+) Movilidad. **E**, Agar urea, reacción negativa a *Salmonella*.

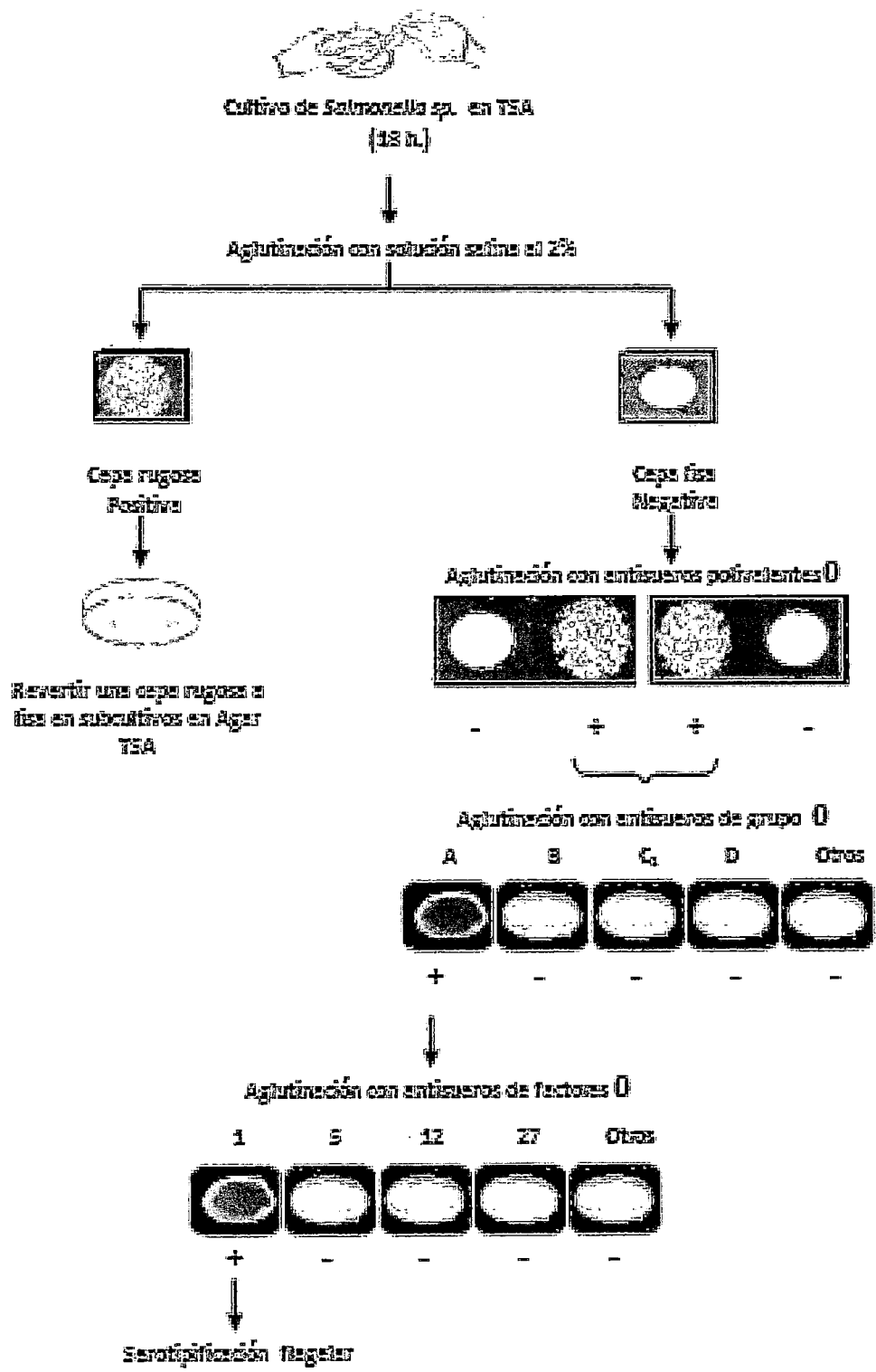
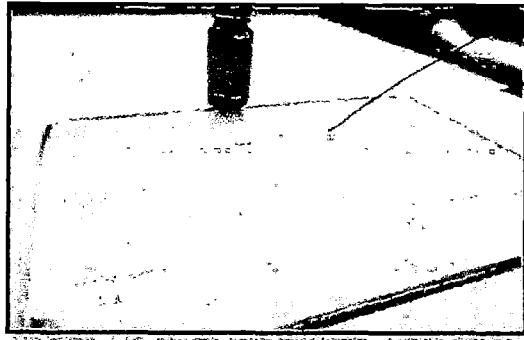


Figura 10. Flujo de serotipificación somática (O) de Salmonella.

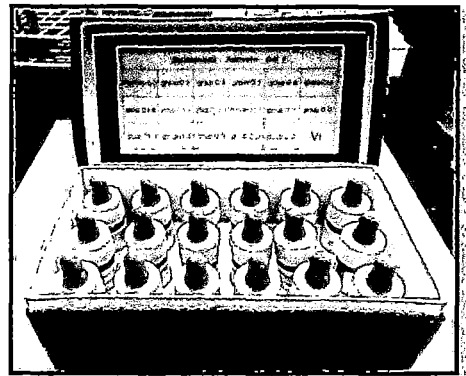
A.



B.



C.



D.

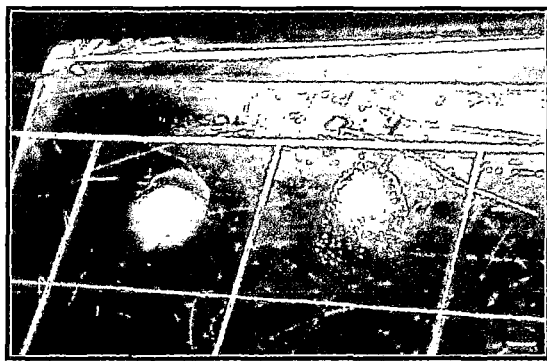


Figura 11. Procedimiento de Serotificación somática. **A,** Reacción antígeno-anticuerpo en lámina. **B,** Cultivo en forma lisa. **C,** kit de antisueros del grupo O. **D,** Aglutinación con antisuero de factor 4.

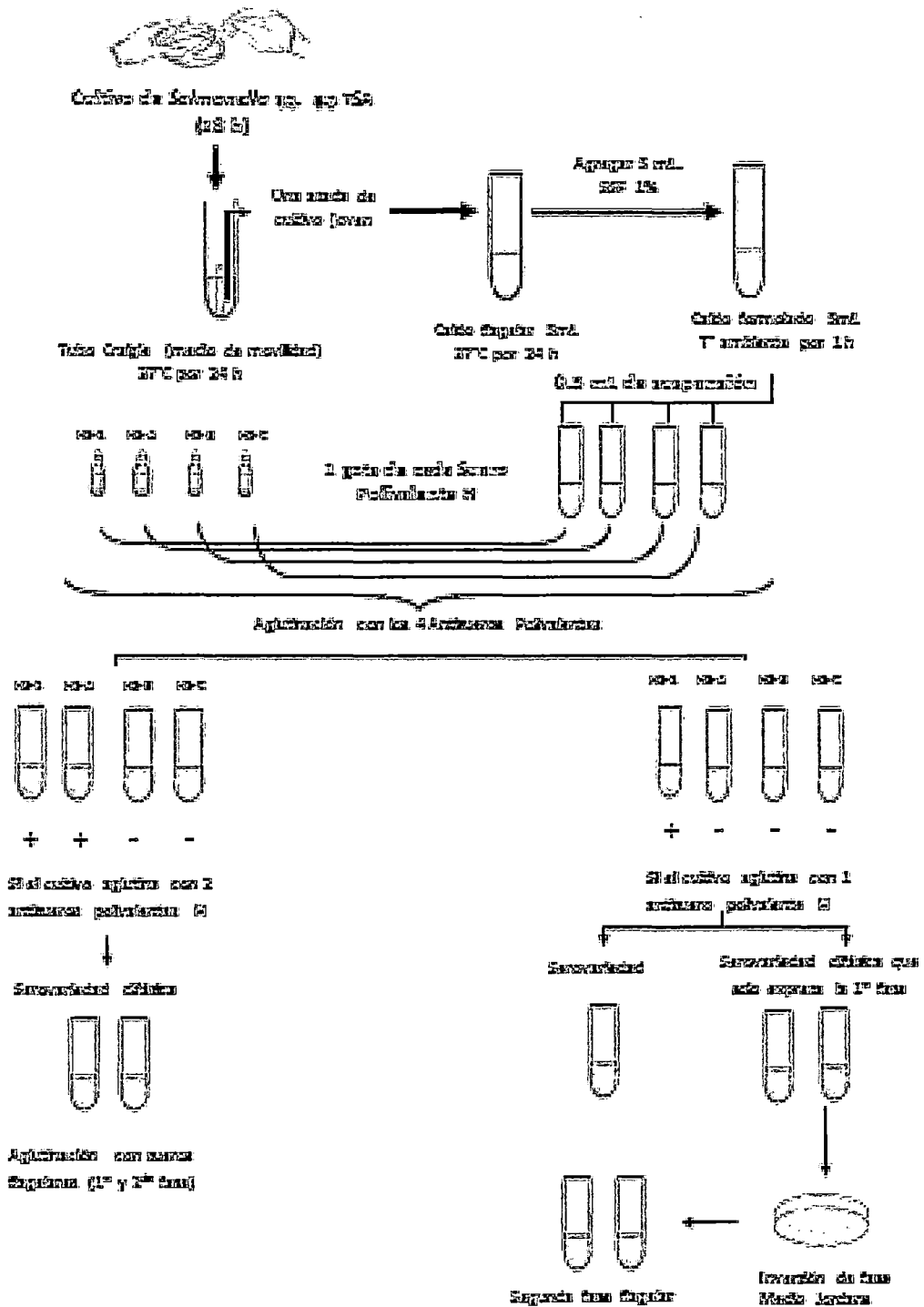


Figura 12. Flujograma de serotificación flagelar (H) de Salmonella.

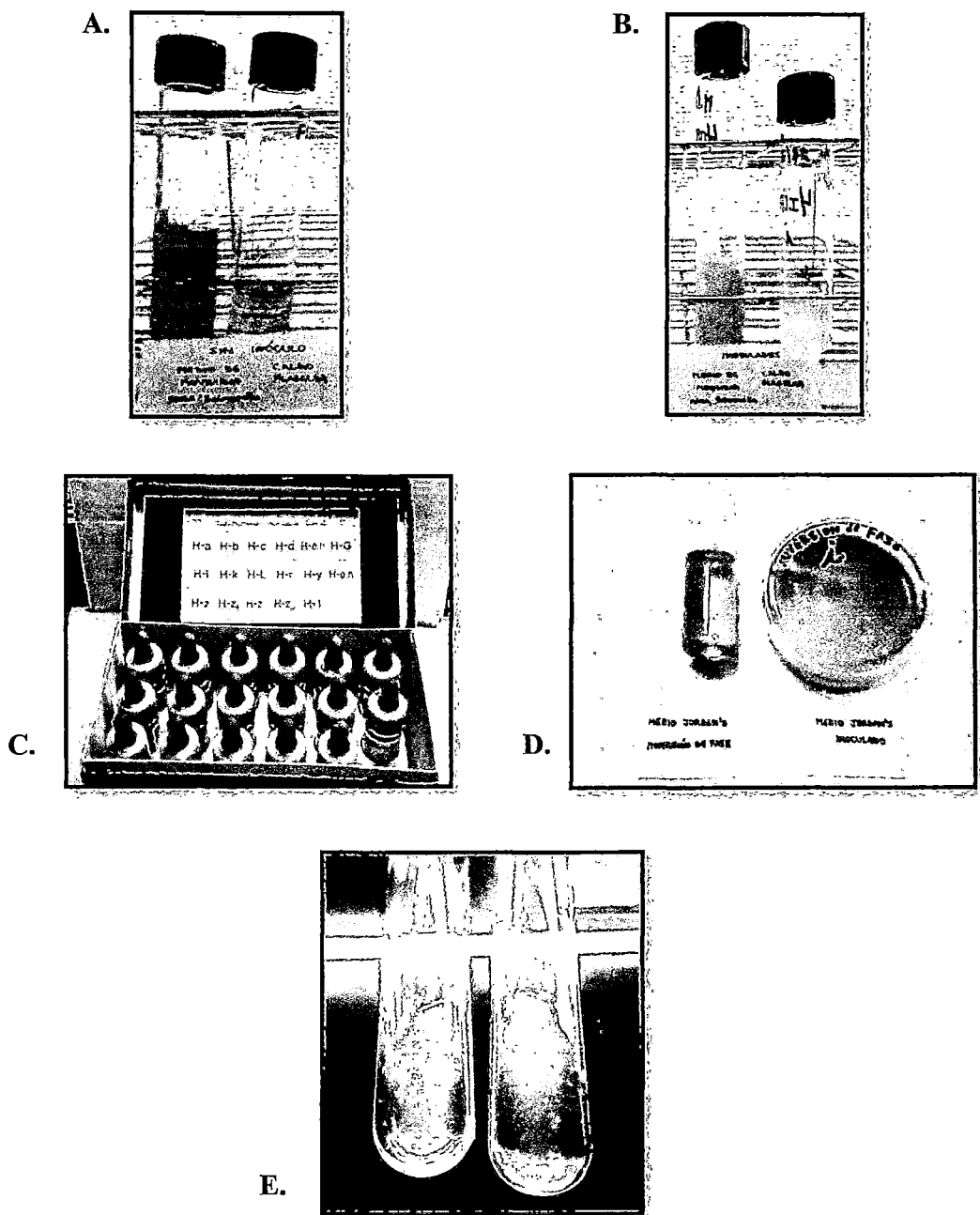


Figura 13. Procedimiento de serotipificación flagelar (H) de Salmonella. **A,** Medio de movilidad y caldo flagelar sin inocular. **B,** Medio de movilidad y caldo flagelar inoculados. **C,** Kit de antisueros del grupo H. **D,** Medio Jordans para inversión de fase. **E,** Aglutinación con sueros flagelares de primera y segunda fase

A.

indicaciones N° de Columnas	Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4
Identificación	Nombre Serovariedad	Antígenos somáticos "O"	Antígeno flagelar "H" (Fase 1)	Antígeno flagelar "H" (Fase 2)
Características	En mayúscula, algunos números romanos	Números, separados por coma	Letras, algunas con subíndice en números, separados por comas	Números y letras separados por comas

B.

FORMULES ANTIGENIQUES / ANTIGENIC FORMULAS			
TYPE	SOMATIC	FLAGELAR (H) ANTIGEN	
	(O) ANTIGEN	PHASE 1	PHASE 2
Typhimurium	1, 4, [5], 12	I	1,2

Figura 14. Identificación de las Serovariedades de Salmonella de acuerdo al Esquema de Kauffmann-White. **A,** Interpretación serológica del Esquema de Kauffmann –White. **B,** Fórmula antigénica de *Salmonella* Typhimurium.

A.



MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
 ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

CODIGO DE ORIGEN	2.1		
ESTABLECIMIENTO	LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL ICA		
LABORATORIO	ENTEROPATOGENOS		
ENFERMEDAD	ENTEROPATOGENOS		
MÉDICO			
DOC REFERENCIA	512013GOREICADIREGALRR	FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA	04/09/2012
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCION LAB REG	
CODIGO DE MUESTRA	050271213	FECHA DE RECEPCION EN INS	15/09/2013

PRUEBAS

CULTIVO Y TIPIFICACION ENTEROPATOGENOS	Rae Laboratorio de Origen:	Rae Lab Referencial Fecha: 23/03/2013	COMENTARIOS
Codigo LANARE		Salmonella Typhimurium 2.441-2013	

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:
 Siga, María Luz Zamudio Rojas
 C.B.P. 2315

Fecha: 11/09/2013 Hora: 2:27 p.m.

Cajac Yapanahua 1400 Teléfono 4719920 Jesús María Lima 11

B.



MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
 ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

CODIGO DE ORIGEN	2.2		
ESTABLECIMIENTO	LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL ICA		
LABORATORIO	ENTEROPATOGENOS		
ENFERMEDAD	ENTEROPATOGENOS		
MÉDICO			
DOC REFERENCIA	512013GOREICADIREGALRR	FECHA DE OBTENCION DE MUESTRA	04/05/2012
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCION LAB REG	
CODIGO DE MUESTRA	050271313	FECHA DE RECEPCION EN INS	15/09/2013

PRUEBAS

CULTIVO Y TIPIFICACION ENTEROPATOGENOS	Rae Laboratorio de Origen:	Rae Lab Referencial Fecha: 23/03/2013	COMENTARIOS
Codigo LANARE		Salmonella Typhimurium 2.442-2013	

Observaciones:




COORD. DE LABORATORIO:
 Siga, María Luz Zamudio Rojas
 C.B.P. 2315

Fecha: 11/09/2013 Hora: 2:27 p.m.

Cajac Yapanahua 1400 Teléfono 4719920 Jesús María Lima 11

Figura 15. A, B, C, D, Informes de resultados de serotipificación de las 04 cepas de *Salmonella* Typhimurium, realizados en el Laboratorio de Enteropatógenos del Instituto Nacional de Salud (INS).

C.



MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
 ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"


INFORME DE RESULTADO

CODIGO DE ORIGEN	3		
ESTABLECIMIENTO	LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL ICA		
LABORATORIO	ENTEROPATOGENOS		
ENFERMEDAD	ENTEROPATOGENOS		
MÉDICO			
DOC REFERENCIA	512013GOREICADIRESAURR	FECHA DE OBTENCIÓN DE MUESTRA	15/01/2013
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCIÓN LAB REG	
CODIGO DE MUESTRA	020271413	FECHA DE RECEPCIÓN EN INS	15/02/2013

PRUEBAS

CULTIVO Y TIPIFICACIÓN ENTEROPATOGENOS	Res Laboratorio de Origen:	Res Lab Referencial Fecha: 23/08/2013	COMENTARIOS
Código LANARE		Salmonella Typhimurium 2-443-2013	

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:
 Dña. María Luz Zamudio Rojas
 C.B.P. 2315

Fecha: 11/05/2013 Hora: 2:27 p.m.

Calle: Yucaypur 1400 Teléfono 4719920 Jesús María Lima 11

D.



MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
 ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

CODIGO DE ORIGEN	4		
ESTABLECIMIENTO	LABORATORIO DE REFERENCIA REGIONAL ICA		
LABORATORIO	ENTEROPATOGENOS		
ENFERMEDAD	ENTEROPATOGENOS		
MÉDICO			
DOC REFERENCIA	512013GOREICADIRESAURR	FECHA DE OBTENCIÓN DE MUESTRA	18/01/2013
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCIÓN LAB REG	
CODIGO DE MUESTRA	020271513	FECHA DE RECEPCIÓN EN INS	15/02/2013

PRUEBAS

CULTIVO Y TIPIFICACIÓN ENTEROPATOGENOS	Res Laboratorio de Origen:	Res Lab Referencial Fecha: 23/08/2013	COMENTARIOS
Código LANARE		Salmonella Typhimurium 2-444-2013	

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:
 Dña. María Luz Zamudio Rojas
 C.B.P. 2315

Fecha: 11/05/2013 Hora: 2:27 p.m.

Calle: Yucaypur 1400 Teléfono 4719920 Jesús María Lima 11

Hallando Z:

$$Z = \frac{p - \pi}{\sqrt{\frac{\pi(1-\pi)}{n}}} = \frac{0.05 - 0.001}{\sqrt{\frac{0.001(1-0.001)}{80}}} = 13.91$$

H₀: $\pi = 0.0001$

H₁: $\pi \neq 0.0001$

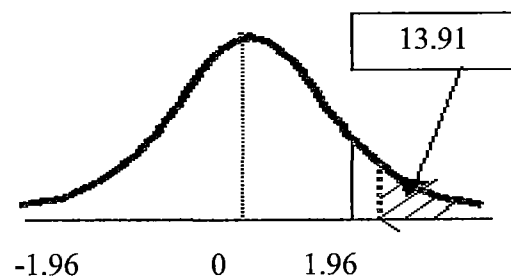


Figura 16. Aplicación de fórmula para hallar Zc.