



**Factores asociados con *Salmonella spp* en etapas de recepción y salida de chiller,
en una planta de beneficio de aves. Bogotá, 2018.**

**Trabajo de investigación para optar al título de
MAGÍSTER EN EPIDEMIOLOGÍA presentado por:**

Carol Agudelo Rico
Claudia Patricia Forero Niño

Asesores

Daniel Alejandro Buitrago Medina

**UNIVERSIDAD DEL ROSARIO
Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud
UNIVERSIDAD CES
Facultad de Medicina**

Maestría en Epidemiología

Bogotá D.C, agosto de 2018



**Factores asociados con *Salmonella spp* en etapas de recepción y salida de chiller,
en una planta de beneficio de aves. Bogotá, 2018.**

**Trabajo de investigación para optar al título de
MAGÍSTER EN EPIDEMIOLOGÍA presentado por:**

Carol Agudelo Rico
carol.agudelo@urosario.edu.co

Claudia Patricia Forero Niño
claudiap.forero@urosario.edu.co

Asesores

Diego Alejandro Buitrago Medina

UNIVERSIDAD DEL ROSARIO
Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud
UNIVERSIDAD CES
Facultad de Medicina

Maestría en Epidemiología

NOTA DE SALVEDAD DE RESPONSABILIDAD INSTITUCIONAL

“Las Universidades del Rosario y CES no se hacen responsables de los conceptos emitidos por los investigadores en el trabajo; solo velarán por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	13
ABSTRACT	14
1 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	15
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
1.2 JUSTIFICACIÓN DE LA PROPUESTA	18
1.3 PREGUNTA.....	20
2 MARCO TEÓRICO	21
2.1 GENERALIDADES DE SALMONELLA <i>spp</i>	21
2.1.1 Estructura antigénica	22
2.1.2 Factores de virulencia de <i>Salmonella spp</i> :	23
2.2 SALMONELOSIS.....	24
2.3 ENFERMEDAD TRANSMITIDA POR ALIMENTOS (ETA).....	24
2.4 TRANSMISIÓN DE SALMONELLA.	25
2.4.1 Transmisión en animales.....	25
2.4.2 Ciclo de infección por <i>Salmonella</i> en la cadena avícola	26
2.4.3 Transmisión en humanos	26
2.5 MANIFESTACIONES DE LA SALMONELOSIS	27
2.5.1 Manifestaciones en aves	27
2.5.2 Manifestaciones en humanos	28
2.6 TIPOS DE POLLO DE ENGORDE	28
2.7 FACTORES ASOCIADOS A LA PRESENCIA DE <i>SALMONELLA spp</i> EN GRANJA DE PROCEDENCIA	29
2.8 PLANTAS DE BENEFICIO DE AVES.....	29
2.9 PROCESO EN PLANTA DE BENEFICIO Y FACTORES ASOCIADOS..	31

2.9.1	Transporte	33
2.9.2	Recepción y colgado	33
2.9.3	Sacrificio (Insensibilización y sangría)	34
2.9.4	Escaldado	34
2.9.5	Desplume	35
2.9.6	Evisceración	35
2.9.7	Enfriamiento.....	35
2.9.8	Desprese	36
2.9.9	Otros factores asociados:	36
2.10	<i>SALMONELLA</i> COMO PROBLEMA	37
2.11	DIAGNÓSTICO.....	37
2.11.1	Diagnóstico Microbiológico:	37
2.11.2	Métodos serológicos.....	38
2.11.3	Métodos basados en ácidos nucleicos	38
3	HIPÓTESIS.....	41
4	OBJETIVOS.....	42
4.1	OBJETIVO GENERAL	42
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
5	METODOLOGÍA.....	43
5.1	ENFOQUE METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN	43
5.1.1	Tipo y diseño de estudio.....	43
5.1.2	Población.....	43
5.2	DISEÑO MUESTRAL.....	44
5.2.1	Cálculo del tamaño de la muestra	44
5.2.2	Estrategia de muestreo.....	45

5.3	DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES:	51
5.3.1	Diagramas de las variables	51
5.3.2	Agrupación de las variables en categorías:	53
5.4	TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN:	53
5.4.1	Fuentes de información	53
5.4.2	Instrumento de recolección de información	53
5.4.3	Proceso de obtención de la información (qué, quién, cómo, cuándo)	54
5.5	PRUEBA PILOTO	59
5.6	CONTROL DE ERRORES Y SESGOS	59
5.7	TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	60
6	CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	62
7	RESULTADOS	63
7.1	Descripción de las características de la granja de procedencia, transporte, la planta de beneficio y de la población a estudio.....	63
7.1.1	Características de granja de procedencia, transporte y población de estudio para la etapa de recepción.....	63
7.1.2	Características de la planta de beneficio y de la población de estudio para la etapa de salida de chiller.	65
7.2	Presencia de <i>Salmonella</i> spp en las etapas del proceso de recepción, evisceración y salida de chiller, a través de la técnica PCR tiempo real.....	66
7.3	Asociación ajustada entre presencia-ausencia de <i>Salmonella</i> spp y las diversas variables de la granja de procedencia, transporte, la planta de beneficio y de la población a estudio.....	68
7.3.1	Características asociadas a <i>Salmonella</i> en la etapa de recepción	68
7.3.2	Características asociadas a <i>Salmonella</i> en la etapa salida del chiller.....	69

7.3.3	Características asociadas con Salmonella ajustadas en la etapa de recepción	71
7.3.4	Regresión logística para presencia de <i>Salmonella</i> spp en la etapa de salida del chiller, Bogotá, 2018.	72
	Fuente: elaboración propia	73
8	DISCUSIÓN	74
9	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	79
10	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	82
11	ANEXOS	86

GLOSARIO

Amplicones: fragmentos amplificados en la PCR

Canales de las aves: cuerpo de las aves después de sacrificado, degollado y eviscerado

Viaje en planta de beneficio: Aves procedentes de una misma granja, en un mismo camión

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de infección por <i>Salmonella</i> en cadena avícola.	26
Figura 2. Diagrama de flujo proceso de beneficio de aves.	32
Figura 3. Codificación para la identificación de las muestras	50
Figura 4. Selección de muestras	50
Figura 5. Representación de los puntos de en los cuales se realizó el muestreo dentro del flujo del proceso de beneficio.	51
Figura 6. Diagrama de la variable dependiente "Prevalencia de <i>Salmonella</i> spp en etapa de recepción"	51
Figura 7. Diagrama de la variable dependiente "Prevalencia de <i>Salmonella</i> spp en etapa de salida del chiller"	52
Figura 8. Técnica de muestreo por enjuague de canales	56
Figura 9. Presencia de <i>Salmonella</i> spp en las etapas de proceso en las cuales se realizó muestreo. Bogotá, 2018.	67

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Número de muestras calculadas en cada etapa del proceso a través del software Epidat 4.2.....	45
Tabla 2. Distribución del número de aves muestreadas pos día y etapa de proceso.....	49
Tabla 3. Interpretación de resultados	58
Tabla 4. Posibles resultados	58
Tabla 5. Control de errores y sesgos.	59
Tabla 6. Descripción de las variables cualitativas de granja de procedencia, transporte, la planta de beneficio y de la población a estudio, Bogotá, 2018.	64
Tabla 7. Descripción de las variables cuantitativas de granja de procedencia, transporte, la planta de beneficio y de la población a estudio, Bogotá, 2018.	65
Tabla 8. Descripción de las variables cualitativas de la planta de beneficio y de la población a estudio, Bogotá, 2018.	65
Tabla 9. Descripción de las variables cuantitativas de la planta de beneficio y de la población a estudio, Bogotá, 2018.	66
Tabla 10. Prevalencia de <i>Salmonella</i> spp por Municipio de procedencia de las aves, Bogotá, 2018.	67
Tabla 11. Análisis bivariado de las variables cualitativas Vs resultado de PCR en tiempo real en recepción. Bogotá, 2018.....	68
Tabla 12. Análisis bivariado de las variables cuantitativas Vs resultado de PCR en tiempo real en recepción. Bogotá, 2018.....	69
Tabla 13. Análisis bivariado de las variables cualitativas Vs resultado de PCR en tiempo real en salida del chiller. Bogotá, 2018.....	70

Tabla 14. Análisis bivariado de las variables cuantitativas Vs resultado de PCR en tiempo real en salida del chiller. Bogotá, 2018.	70
Tabla 15. Regresión logística para presencia de <i>Salmonella</i> spp en la etapa de recepción, según las diversas variables de la granja de procedencia, transporte y de la población a estudio, Bogotá, 2018.	71
Tabla 16. Regresión logística para presencia de <i>Salmonella</i> spp en la etapa de recepción, según las diversas variables de la granja de procedencia, transporte y de la población a estudio con RP ajustado, Bogotá, 2018.	72
Tabla 17. Regresión logística para presencia de <i>Salmonella</i> spp en la etapa de salida de chiller, según las variables del proceso de beneficio y de la población a estudio, Bogotá, 2018.	73
Tabla 18. Regresión logística para presencia de <i>Salmonella</i> spp en la etapa de salida de chiller, según las variables del proceso de beneficio y de la población a estudio, Bogotá, 2018, con RP ajustado.	73

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Lista de variables.....	86
Anexo B. Encuesta médicos veterinarios de las granjas de procedencia.	93
Anexo C. Lista de chequeo en planta de beneficio.	94
Anexo D. Certificado capacitación manejo del Kit de diagnóstico.....	95
Anexo E. Guía rápida PCR Salmonella.....	96
Anexo F. Acuerdo de confidencialidad y aprobación Animed y Planta de beneficio.	98
Anexo G. Comunicación comité de ética.....	99

RESUMEN

Introducción. En Colombia la Avicultura es una de las industrias con mayor crecimiento en los últimos años, lo que conlleva a un incremento de amenazas en el sistema productivo como enfermedades infecciosas, pérdidas económicas por mortalidad, entre otras. La *Salmonella* es un agente zoonótico causante de enfermedades de transmisión alimentaria, que afecta anualmente a decenas de millones de personas de todo el mundo, siendo de gran impacto a nivel de la salud pública, salud animal y sector económico.

Métodos. El objetivo fue identificar los factores asociados a la prevalencia de *Salmonella* spp en una planta de beneficio de aves de Bogotá D.C., a través de un estudio de prevalencia analítica. Se recolectó información y se tomaron muestras correspondientes a 878 aves distribuidas en las etapas de recepción, evisceración y salida del chiller del proceso de beneficio, las cuales fueron procesadas mediante PCR en tiempo real para la determinación de *Salmonella* spp. Se realizó un análisis univariado, bivariado y multivariado.

Resultados. La prevalencia de *Salmonella* spp en recepción fue de 37,84%, en evisceración del 89,19% y en la salida del chiller 72,46%. Los factores que mejor explican la positividad en recepción fueron densidad de aves en el galpón (RP 1,9 (IC 1,3-2,6)) y uso de cama reutilizada (RP 1,6 (IC 1,01-2,25)); para la salida del chiller fueron día de la semana (RP 1,8 (IC 1,6-1,9)) y cantidad de horas desde el inicio del proceso (RP 1,6 (IC 1,34-1,7)).

Discusión. El aumento de la prevalencia *Salmonella* spp evisceración indica contaminación durante el proceso. La disminución de prevalencia en salida del chiller, sugiere una eficiencia en la eliminación de la bacteria por procesos de desinfección. Durante los últimos días de la semana y las últimas horas de proceso se presenta una mayor carga de la bacteria en el proceso.

PALABRAS CLAVES: *Salmonella*, factores de riesgo, aves, matadero, PCR en tiempo real.

ABSTRACT

Introduction. In Colombia, poultry farming is one of the fastest growing industries in recent years, which leads to an increase in threats in the productive system such as infectious diseases, economic losses due to mortality, among others. *Salmonella* is a zoonotic agent that causes foodborne diseases, which annually affects tens of millions of people around the world, being of great impact at the level of public health, animal health and economic sector.

Methodology. The present work was proposed with the aim of identifying the factors associated to the prevalence of *Salmonella* spp in a poultry slaughterhouse of Bogotá D.C., through an analytical prevalence study. Information was collected and samples were taken corresponding to 878 birds distributed in the stages of reception, evisceration and chiller output of the slaughter process, which were processed by real-time PCR for the determination of *Salmonella* spp. A univariate, bivariate and multivariate analysis was carried out.

Results. The prevalence of *Salmonella* spp in reception was 37,84%, in evisceration 89,19% and in the exit of chiller output 72,46%. The factors that best explain the prevalence of *Salmonella* spp in reception were density of birds in the farm (PR 1,9 (CI 1,3-2,6)) and use of reused litter (PR 1,6 (CI 1,01-2,25)); for the exit of chiller output were day of the week and number of hours since the beginning of the process (PR 1,6 (CI 1,34-1,7)).

Discussion. The increase in the prevalence of *Salmonella* spp in evisceration indicates contamination during the process. The decrease in prevalence at the exit of the chiller suggests an efficiency in the elimination of the bacteria by disinfection processes. During the last days of the week and the last hours of the process, there is a greater burden of the bacteria in the process.

KEY WORDS: *Salmonella*, risk factors, birds, slaughterhouse, Real-Time PCR.

1 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La bacteria del género *Salmonella*, causante de la enfermedad denominada salmonelosis, es un agente zoonótico causante de *Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA)* (1, 2). Millones de personas se afectan por esta enfermedad en el mundo con miles de muertes. Existen más de 2.500 cepas (“serotipos” o “variantes séricas”) de *Salmonella*. Esta bacteria es muy resistente por lo que sobrevive durante semanas en ambientes secos y meses en húmedos (3). Tiene un gran impacto negativo sobre la salud pública, la salud animal y el sector económico (4).

De acuerdo a la Organización mundial de la Salud “Se estima que cada año enferman en el mundo unos 600 millones de personas –casi 1 de cada 10 habitantes– por ingerir alimentos contaminados y que 420 000 mueren por esta misma causa, con la consiguiente pérdida de 33 millones de años de vida ajustados en función de la discapacidad (AVAD)” (5). Así mismo, se determinó que “Los niños menores de 5 años soportan un 40% de la carga atribuible a las enfermedades de transmisión alimentaria, que provocan cada año 125 000 defunciones en este grupo de edad” y que “las infecciones diarreicas, que son las más comúnmente asociadas al consumo de alimentos contaminados, hacen enfermar cada año a unos 550 millones de personas y provocan 230 000 muertes” (5).

Es por esto que, de acuerdo al Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, las ETA tienen un costo en la economía de ese país de 10 – 83 billones de dólares por año, incluyendo disminución en la productividad, costos de atención médica, pérdida de clientes y ventas y demandas resultantes de la compensación por pérdida de ingresos, gastos médicos, gastos legales y otros daños (6).

Entre los microorganismos de transmisión alimentaria que afectan a millones de personas cada año se encuentran la *Salmonella*, el *Campylobacter* y *Escherichia coli enterohemorrágica*; los cuales pueden generar efectos graves o incluso mortales, con síntomas como fiebre, dolores de cabeza, náuseas, vómitos, dolores abdominales y

diarrea. Los alimentos más relacionados con brotes de Salmonelosis son los huevos, la carne de ave y otros productos de origen animal (7). Los alimentos de origen avícola generalmente se encuentran implicados en la transmisión del patógeno, debido a una inadecuada cocción del pollo y los huevos o por la contaminación cruzada con otros alimentos (8). Es por esto que como medidas de prevención contra la salmonelosis se recomienda llevar a cabo unas prácticas básicas de higiene de los alimentos, entre ellas la total cocción (9).

En un estudio realizado en Colombia en el año 2014 en canales de aves obtenidas en expendios de carne, la prevalencia de *Salmonella* fue de 36,5%(10), lo que podría incidir directamente en la presentación de enfermedades producidas por el consumo de pollo contaminado (11). Los alimentos pueden llegar a adquirir el patógeno en cualquier etapa de la cadena productiva desde la incubadora hasta el consumo (1). Es por esto que todos los integrantes en esta cadena deben realizar actividades necesarias para medidas para garantizar la inocuidad de los alimentos, desde el que produce hasta el que consume (12).

La Salmonelosis aviar es una enfermedad de control oficial en producción primaria por parte del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. Los serovares sobre los cuales se realizan actividades de control son: *Salmonella.pullorum* y *Salmonella gallinarum* con base en las Resoluciones 176 de 1976 y 1787 de 1992, con las cuales se declara de notificación obligatoria en el territorio nacional.

El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, Invima, como entidad oficial, responsable de la Inspección, vigilancia y control en plantas de beneficio, ha venido realizando estudios de prevalencia y, según lo reportado en reuniones con diferentes actores, la prevalencia de *Salmonella* spp para el año 2012 en las plantas de beneficio de aves a nivel nacional fue de 34% en evisceración y 29% a la salida de chiller. Actualmente en Colombia existen 111 plantas de beneficio autorizadas por el Invima (13) en las cuales se beneficiaron aproximadamente 495 millones de aves en el año 2017.

Es así como, se requieren intervenciones a nivel de producción primaria, medidas sanitarias adecuadas durante el beneficio y condiciones higiénicas durante el

procesamiento posterior de los productos, con un enfoque integrado, con el fin de reducir el impacto en la salud pública por *Salmonella* (14). En este sentido, se ha evidenciado en diversos estudios que las diferentes etapas del proceso de beneficio pueden incidir en el aumento o disminución de la prevalencia de *Salmonella* spp en las canales de las aves (15) lo cual, puede depender de las instalaciones, las tecnologías usadas y las prácticas higiénicas que se empleen (16). Por otra parte, varios estudios relacionan el sacrificio de lotes positivos a *Salmonella* spp, con el aumento de la contaminación de los lotes sucesivos en la línea de proceso, aumentando 30% a 70% su incidencia (19).

Adicionalmente, se ha encontrado que el riesgo de canales contaminadas con *Salmonella* spp incrementa en las plantas de beneficio con alta capacidad de producción y en las últimas horas del proceso durante el día (17); igualmente, existe mayor prevalencia de patógenos en los muestreos realizados en los últimos días de la semana (jueves) con respecto a los primeros días (lunes) (18).

Teniendo en cuenta lo descrito anteriormente, adicional a que en la revisión de literatura realizada no se observó evidencia de estudios encaminados a explorar los factores asociados a la presencia *Salmonella* spp en plantas de beneficio de aves en Colombia utilizando la técnica de análisis de PCR en tiempo real y se hace necesario realizar un estudio con el fin de revisar el comportamiento de la bacteria en las aves en diferentes etapas del proceso de beneficio en una planta de beneficio.

1.2 JUSTIFICACIÓN DE LA PROPUESTA

El Plan Decenal de Salud Pública 2012-2021 de Colombia, dentro de la Dimensión de Seguridad Alimentaria y Nutricional, incluye el componente de consumo y aprovechamiento biológico e inocuidad y calidad de los alimentos, donde se establecen estrategias encaminadas a garantizar el derecho a la alimentación sana mediante el control de los riesgos sanitarios y fitosanitarios de los alimentos (19). Adicionalmente, dentro de los Objetivos de Desarrollo Sostenible, a nivel mundial, se tiene establecido para el año 2030, *“poner fin a todas las formas de malnutrición, incluso logrando, a más tardar en 2025, las metas convenidas internacionalmente sobre el retraso del crecimiento y la emaciación de los niños menores de 5 años, y abordar las necesidades de nutrición de las adolescentes, las mujeres embarazadas y lactantes y las personas de edad”* (20).

Para lograr estos objetivos, en Colombia, es muy importante la disponibilidad de carne inocua de pollo, teniendo en cuenta que es una de las fuentes de proteína animal más económicas, de mayor producción (1,47 millones de toneladas al año) (21) y de mayor consumo en Colombia (30 kilogramos per cápita al año), de acuerdo con lo reportado por la Federación Nacional de Avicultores de Colombia (FENAVI) (22).

Existen factores que pueden estar asociados a la contaminación por *Salmonella* spp durante el proceso de beneficio que con intervenciones adecuadas pueden conllevar a su disminución.

Este trabajo pretende explorar los factores asociados a la presencia de *Salmonella* spp en las etapas del proceso recepción y salida de chiller en una planta de beneficio, lo que permitirá establecer recomendaciones que conduzcan a la disminución de la prevalencia de *Salmonella* spp en el pollo para consumo humano obteniendo posibles impactos en la reducción de ocurrencia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos en las que la bacteria se encuentra como agente causal o potenciador de enfermedad gastrointestinal, reduciendo costos relacionados con la atención de pacientes por cuadros asociados,

mejorando la posibilidad de comercialización en mercados nacionales e internacionales y garantizando un alimento inocuo en la población colombiana.

1.3 PREGUNTA

¿Cuáles son los factores asociados con la presencia de *Salmonella spp* medida a través de la técnica de PCR en tiempo real, en las etapas del proceso de beneficio (recepción y salida de chiller), en una planta de beneficio de aves de la ciudad de Bogotá D.C., durante el mes de abril de 2018?

2 MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES DE SALMONELLA spp

Al género *Salmonella* se le dio el nombre por el microbiólogo Daniel Elmer Salmon (1850-1914), quien fue considerado como el primer doctor en medicina veterinaria en 1876 y junto a Theobald Smith (1859 – 1934) descubrieron en 1885 el microorganismo *Salmonella* en Aislados de cerdos con cólera (23-25).

Es una bacteria perteneciente a la familia *Enterobacteriaceas*, bacilo gram negativo, en su mayoría intracelulares facultativos; pueden ser aerobias y anaerobias, son oxidasa negativa, su crecimiento oscila entre 7- 48 °C, su pH óptimo de crecimiento es de 4 y 7 (23, 26). Generan enfermedades entéricas tanto en los seres humanos como en los animales, (1, 2, 24). Se clasifican en dos especies: *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*, esta última a su vez se divide en 6 subespecies: (2, 27-29), las cuales se diferencian por características bioquímicas.

Subespecie I = subespecie *enterica*

Subespecie II = subespecie *salamae*

Subespecie IIIa = subespecie *arizonae*

Subespecie IIIb = subespecie *diarizonae*

Subespecie IV = subespecie *houtenae*

Subespecie VI = subespecie *indica*

El símbolo V es del serotipo de *S. bongori* (24, 25, 29).

Generalmente la *Salmonella* es móvil, ya que presenta flagelos a excepción de *S. Gallinarum* que causa tifosis aviar y *S. Pullorum* causal de pullorosis; no fermentan lactosa ni sacarosa, fermentan glucosa con producción de ácido y gas (H₂S) a excepción de *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* y *S. typhi* que no producen H₂S (23, 24). Son indol y voges-proskauer (VP) negativo, lisina ornitina y descarboxilasa positivo, urea negativa, citrato de Simmons positivo (24).

Esta bacteria tiene especificidad de huésped, es así como *S. typhi* afecta al hombre, *S. cholerae* infecta sólo a porcinos, *S. pullorum* y *S. gallinarum* producen enfermedad principalmente a las aves (aves y gallinas), *S. dublin* infecta a bovinos, *S. abortus ovis* y *S. abortus equi* afectan a ovinos y equinos respectivamente. La *S. typhimurium* no posee esta especificidad ya que afecta a un gran número de huéspedes (30).

La *Salmonella* afecta principalmente el intestino del hombre, mamíferos y aves; sin embargo, frecuentemente se localizan en ganglios linfáticos y otros tejidos. En aves la *Salmonella* se aísla a partir de ovarios, huevo, vesícula biliar, hígado (30).

2.1.1 Estructura antigénica

Presenta dos clases de antígenos (Ag) principales: antígenos O (somáticos) y antígenos H (flagelares), sin embargo, algunas cepas presentan un antígeno de superficie descrito por Koneman y Allen el cual se relaciona con la virulencia del llamado antígeno Vi y se relaciona con la invasividad. Según la clasificación de Kauffmann–White se reconocen aproximadamente 2.500 serotipos (25, 27).

- Antígeno Somático (O) de pared celular

Está conformado por una cadena de polisacáridos es termolabile y específico, ya que se encuentra en todas las especies de *Salmonella* (25, 26, 30). Forma parte del lipopolisacárido (LPS) que sale de la membrana externa y que actúa como una barrera de protección a los agentes externos (26).

Se encuentran dos grupos de antígenos somáticos, los mayores que determinan el serogrupo y los menores que solo se encuentran en ciertas *Salmonellas* (25).

Los factores O permiten caracterizar los tipos antigénicos. (por ejemplo, O4: se refiere al grupo B, O9 al grupo D, entre otros). Este antígeno O determina el subgrupo somático

- Antígeno Flagelar (H)

Antígeno proteico y termolábil, compuesto por flagelina (30). Es una estructura que permite el movimiento (26). Las bacterias que presentan estos antígenos generalmente, cuentan con dos fases diferenciables que dependen de dos genes estructurales: fase 1 y fase 2, lo cual representan los estados motil y no motil de las bacterias (25). En la primera fase (H1) es un antígeno específico de especie y su síntesis es en el gen hag1, se expresa durante las primeras 24 h del crecimiento. La segunda fase H2, es compartido por varias especies de *Salmonella* y el gen que codifica para su producción es el Hag2, y se expresa a partir de las 24 h posteriores al inicio del desarrollo.

- Antígeno capsular (K):

Es un antígeno termolábil, que recibe el nombre de (Vi) en *Salmonella*, cuya función es proteger a la bacteria confiriéndole resistencia antifagocítica (25, 30).

2.1.2 Factores de virulencia de *Salmonella* spp:

Se conocen varios factores de virulencia, como la producción de tres toxinas:

- Enterotoxinas: sustancias liberadas al intestino que ocasionan síntomas gastrointestinales como cólicos y diarrea.
- Endotoxinas: hacen parte de la membrana exterior de la bacteria y su actividad está asociada con los lipopolisacáridos (LPS) (25).
- Citotoxinas: están asociadas con la superficie celular, inhiben la síntesis proteica en la célula hospedadora y se implican en la adherencia a las células epiteliales, lo que se constituye en un segundo factor de virulencia de *Salmonella* spp.

Serotipificación:

Permite determinar la prevalencia de una serovariedad en distintas zonas geográficas, lo que se constituye de importancia en estudios de brotes, para identificar las fuentes de

infección y las vías de transmisión. La identificación de antígenos se realiza por medio de anticuerpos mono y polivalentes.

2.2 SALMONELOSIS

Este vocablo se usa para describir la infección causada por la bacteria del género *Salmonella* (30). Es una enfermedad transmitida desde los animales a los humanos (zoonosis) que puede ser a través de consumo de alimentos, por eso su importancia en salud pública (26).

La Salmonelosis es una enfermedad de control oficial por parte del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. Los serovares sobre los cuales se realiza actividades de control son: *Salmonella pullorum* y *Salmonella gallinarum* con base en las Resoluciones 176 de 1976 y 1787 de 1992, con las cuales se declara de notificación obligatoria en el territorio nacional. De acuerdo a lo reportado por este Instituto, la vigilancia que se está realizando actualmente sobre esta enfermedad es pasiva, mediante la atención de notificaciones por cuadro digestivo que sea compatible. De esta forma el ICA ha reportado 2 predios de aves afectados por salmonelosis desde el año 2015 a junio de 2018 de acuerdo a los boletines epidemiológicos mensuales (31).

2.3 ENFERMEDAD TRANSMITIDA POR ALIMENTOS (ETA)

Se designa como ETA al *“síndrome originado por la ingestión de alimentos y/o agua, que contengan agentes etiológicos en cantidades tales que afecten la salud del consumidor a nivel individual o grupos de población”* y Brote de ETA al *“episodio en el cual dos o más personas presentan una enfermedad similar después de ingerir alimentos, incluida el agua, del mismo origen y donde la evidencia epidemiológica o el análisis de laboratorio implica a los alimentos y/o al agua como vehículos de la misma* (32, 33).

Se constituyen en uno de los problemas de salud pública más comunes y de mayor impacto sobre la salud de las personas en el mundo. Afectan principalmente a la población pobre,

a niños, mujeres embarazadas y ancianos (32). Los brotes de ETA producen pérdida de ingresos, desempleo y demandas, el deterioro del alimento produce pérdidas (32).

En Colombia entre los años 2000 a 2009 se registró en el Sistema de Salud Pública (SIVIGILA) un promedio de 7158 casos de ETA por año y entre los años 2010 al 2014 se registró un promedio de 11627, lo que indica un aumento en la notificación de ETA (32).

2.4 TRANSMISIÓN DE SALMONELLA.

La *Salmonella* está ampliamente distribuida en el ambiente debido a su capacidad de supervivencia manteniendo su viabilidad e infectividad. Puede sobrevivir mucho tiempo en diferentes condiciones como por ejemplo durante semanas en el agua e incluso años en el suelo (26, 34), 9 meses en ropa guardada en la oscuridad, 30 semanas en galpones desocupados con presencia de materia orgánica, 1 a 2 años en desechos de incubación o en el ambiente de incubadoras (34). Se encuentran con frecuencia en vertidos de granjas, aguas residuales y en cualquier material con materia fecal (27). Son patógenos del aparato digestivo de los mamíferos domésticos, silvestres, aves, reptiles e insectos generando un gran número de enfermedades.

Las especies de *Salmonella* se pueden transmitir por contacto con enfermos como con portadores sanos o la salmonelosis puede ser de origen alimentario por el consumo de alimentos contaminados (25).

2.4.1 Transmisión en animales

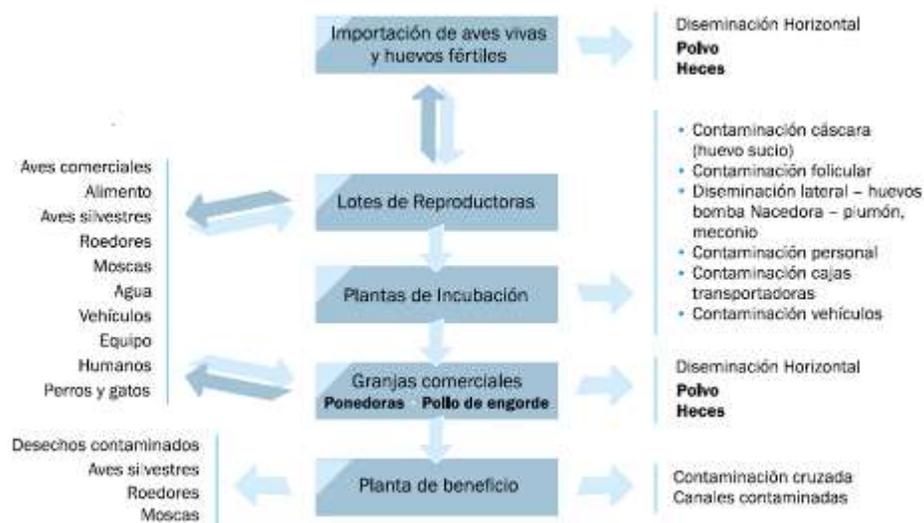
Puede transmitirse a lo largo de la cadena avícola por vía horizontal y vertical, en cualquier etapa de la producción a partir de diversas fuentes, lo que conlleva a su diseminación (34). La *Salmonella* spp es eliminada en la materia fecal de los animales infectados contaminando el ambiente y los animales presentes ingieren agua o alimento con este microorganismo. Las bacterias eliminadas en las heces pueden sobrevivir hasta 10 o más meses. La transmisión se presenta generalmente por vía oral/fecal (26), aunque también pueden ser infectadas por vía transovárica, especialmente con *S. pullorum*, *S. gallinarum*, *S. typhimurium* y *S. thompson* (30).

En las incubadoras la infección se disemina fácilmente por contacto directo entre las aves. Los animales susceptibles a adquirir esta infección son los pollitos durante las tres primeras semanas de edad, los que son sometidos a largos viajes, alimentación deficiente, y alojados en locales inadecuados (30). Los animales pueden ser infectados por alimentos, equipos, fertilizantes, por las manos y ropa de los trabajadores contaminados con *Salmonella*.

2.4.2 Ciclo de infección por *Salmonella* en la cadena avícola

En la figura 1 se presenta el ciclo de infección de *Salmonella* a lo largo de la cadena avícola desde la importación de huevos fértiles hasta la planta de beneficio.

Figura 1. Ciclo de infección por *Salmonella* en cadena avícola.



Fuente: Propuesta para un programa de monitoreo de *Salmonella* en granjas avícolas colombianas basado en autocontrol (34).

2.4.3 Transmisión en humanos

La *Salmonella* es el agente etiológico de infecciones intestinales y sistémicas, es un contaminante de los alimentos de origen animal y ambiental. De esta forma, la infección subclínica en animales de producción provoca la contaminación de la carne, los huevos y la leche o la contaminación de frutas y verduras que se han fertilizado o regado con desechos orgánicos (27).

La diseminación ocurre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, por una inapropiada manipulación, por ingesta de carne cruda o mal cocida; otras fuentes de contaminación puede ser por roedores e insectos (8). La carne de los animales de consumo puede tener *Salmonella* debido a que el animal este infectado o sin duda la causa más frecuente es durante el proceso de beneficio fundamentalmente durante la evisceración de la canal (26). Los productos de origen avícola como la carne y los huevos son los más asociados(8, 26). La transmisión del microorganismo se da por deficiencias en la cocción del pollo y los huevos o a través de la contaminación cruzada de estos productos con otros ingredientes (8) que no requieren cocción (por ejemplo de ensaladas).

2.5 MANIFESTACIONES DE LA SALMONELOSIS

2.5.1 Manifestaciones en aves

Algunos serotipos de *Salmonella* solo afectan a determinados hospedadores como la *S. Gallinarum* (tifosis aviar) y *S. Pullorum* (pulorosis o diarrea blanca bacilar) que afecta únicamente a las aves (27), (35). En pulorosis las aves más susceptibles son las más jóvenes y causa anorexia, diarrea, deshidratación, debilidad y muerte. En aves adultas es menos severa, pero puede haber una disminución en la producción de huevos y algún incremento en la mortalidad a diferencia de la tifosis que afecta principalmente a aves adultas y ocurre una septicemia más aguda (35). Las aves pueden estar infectadas, pero no mostrar enfermedad clínica, lo que es importante en la difusión de la enfermedad entre granjas y ser causa de ETA en humanos (27).

2.5.2 Manifestaciones en humanos

Su periodo de incubación es de 18 a 36 horas y produce dolor abdominal, diarrea, escalofríos, fiebre, náuseas, vomito (32). Generalmente, los síntomas de salmonelosis son leves y los pacientes se recuperan sin tratamiento específico. No obstante, lo anterior, la deshidratación causada por la enfermedad puede ser grave y poner en peligro la vida, especialmente en niños y en ancianos. Entre el 60 y el 80% de los casos no se reconocen como parte de un brote identificado y se clasifican como casos esporádicos, o muchas veces no se diagnostican (9).

2.6 TIPOS DE POLLO DE ENGORDE

La raza en la avicultura es un grupo de individuos con características fenotípicas (externas) y genotípicas (internas) definidas que pasan de generación en generación. Se pueden dividir en tres categorías según su peso corporal: Pesadas, semi-pesadas, livianas, y para cada categoría se han establecido líneas comerciales. Una línea se forma a partir de cruzamiento con el fin de obtener un ave con características deseadas (23). En Colombia las líneas de pollo de engorde que más se producen son (36):

- Línea de aves Ross: es un pollo de engorde fuerte, que crece rápidamente, muy eficiente en lo que respecta a la conversión alimenticia y con buen rendimiento de carne (23).
- Línea de aves Cobb: es un pollo de engorde muy eficiente, debido a que tiene una baja conversión alimenticia, una alta tasa de crecimiento, buena capacidad de desarrollarse con nutrición de baja densidad y menor precio (23).
- Pollo Hubbard: es el tipo de pollo que se caracteriza por una alta eficiencia, rapidez en crecimiento, especialmente bajo condiciones de manejo limitadas (36)..

2.7 FACTORES ASOCIADOS A LA PRESENCIA DE *SALMONELLA* spp EN GRANJA DE PROCEDENCIA

A nivel de la granja de procedencia se han encontrado factores asociados al aumento en la prevalencia de *Salmonella* spp en las aves, como condiciones de higiene de las granjas, el alimento en los comederos, el agua, otros animales dentro de las granjas (insectos, arañas, roedores pájaros), las botas de los operarios (37, 38), alta densidad de las aves por metro cuadrado (39). En el estudio realizado por Heyndrick et al (37), se encontró una asociación significativa entre el porcentaje de muestras positivas a *Salmonella*, tomadas en superficies o material orgánico las condiciones de higiene de las instalaciones, el alimento y el agua de las granjas. Adicionalmente, se encontró que un potencial de riesgo en la transmisión horizontal durante el crecimiento, es la introducción de material móvil en los galpones de aves de engorde después de la limpieza y desinfección. De acuerdo a lo reportado por Bueno, D. et al (40), el uso de cama reutilizada, no manejada de manera adecuada puede asociarse a la presencia de *Salmonella* en los galpones. Por lo tanto, es importante conocer en términos generales las condiciones de las granjas de procedencia frente al tipo de alimentación (manual o automática), tipo de agua (potable o no), el tipo de ambiente que se maneja (controlado o no), uso de cama reutilizada y la densidad en las aves.

2.8 PLANTAS DE BENEFICIO DE AVES

Las plantas de beneficio de aves son los establecimientos autorizados por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, (Invima), en los cuales se realiza el beneficio y desprese de las aves. De acuerdo a las bases de datos del Invima, en Colombia se encuentran autorizadas 105 plantas de beneficio de aves, con corte al 8 de agosto de 2016. La normatividad aplicable para estos establecimientos, a partir del 8 de agosto de 2016, es el Decreto 1500 de 2007 y Resoluciones 241 y 242 del 2013; la primera aplica para plantas que procesan menos de 3000 aves al día y la segunda para las que procesan más de 3000 (15, 41)

Conforme a esta reglamentación y a lo establecido en el Decreto 2690 de 2015, la *Salmonella* spp se incluye dentro del programa de verificación microbiológica, por lo cual debe estar dentro de los planes de muestreo microbiológico de los establecimientos, como cumplimiento de un estándar de desempeño. El Gobierno Nacional se encuentra definiendo este estándar de desempeño, con base en la prevalencia obtenida en los estudios realizados por el Invima. Un estudio realizado por este Instituto, la prevalencia de *Salmonella* spp para el año 2012 en las plantas de beneficio de aves a nivel nacional fue de 34% en evisceración y 29% a la salida de chiller. Actualmente en Colombia existen 111 plantas de beneficio autorizadas por el Invima (13) en las cuales se beneficiaron aproximadamente 495 millones de aves en el año 2017.

Considerando las altas prevalencias, la autoridad sanitaria de Estados Unidos, la Agencia de Inspección y de Seguridad Alimentaria (Food Safety and Inspection Service, FSIS) estima que es necesario realizar intervenciones a nivel de granja de procedencia, desarrollar procedimientos sanitarios en el proceso de beneficio y mantener adecuadas condiciones en las etapas posteriores (transporte y comercialización), con un enfoque integral, con el fin de reducir impacto en salud pública (14).

Entiéndase por canal al *“cuerpo de un animal después de sacrificado, degollado, (...) eviscerado quedando sólo la estructura ósea y la carne adherida a la misma sin extremidades”*, de acuerdo a la definición establecida en el Decreto 1500 de 2007 (15).

En las diferentes etapas de procesamiento, en plantas de beneficio se deben realizar prácticas encaminadas a reducir la prevalencia de *Salmonella* spp, de tal forma que se prevenga la contaminación, para lo cual en algunas ocasiones es necesario usar productos antimicrobianos. Para que se pueda lograr lo anterior, los establecimientos deben (14):

- Ejecutar actividades de limpieza y desinfección diaria de equipos y utensilios usados para remover contaminación o para realizar cortes en las canales.
- Diseñar y ubicar los equipos de tal forma que se prevenga que las canales tengan contacto entre sí.

- Realizar lavado frecuente de manos, delantales, utensilios y superficies que entran en contacto con canales.
- Utilizar tratamientos de intervención antimicrobianos como lavados y aspersión de canales o inmersiones, de acuerdo con los límites seleccionados por los establecimientos de manera que se haya demostrado que son adecuados para direccionar ocasionales eventos de contaminación no visibles de las canales y partes asociadas, incluyendo vísceras.

En términos generales, existen varias etapas en el proceso de beneficio en las cuales puede haber factores que favorecen o reducen la prevalencia de *Salmonella* spp, las cuales se presentan en el diagrama de flujo en la figura No. 2 y se describen a continuación, con base en el documento guía establecido por FSIS (14).

2.9 PROCESO EN PLANTA DE BENEFICIO Y FACTORES ASOCIADOS

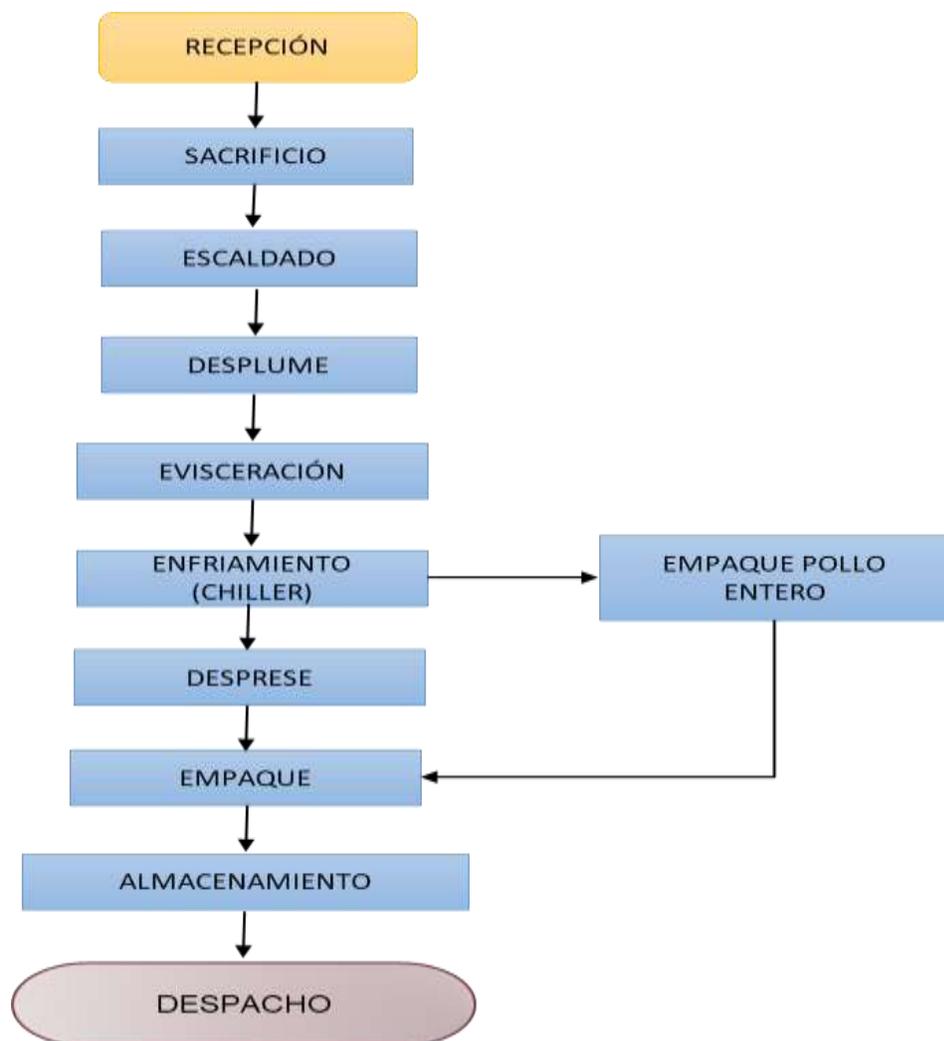
Es necesario que durante el beneficio de las aves se utilicen buenas prácticas de higiene y se apliquen los sistemas de autocontrol basados en los Sistemas de Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (HACCP por sus siglas en inglés) que se basa en siete principios: “1. Realizar un análisis de peligros 2. Determinar los puntos críticos de control (PCC), 3. Establecer un límite o límites críticos, 4. Establecer un sistema de vigilancia del control de los PCC, 5. Establecer las medidas correctivas que han de adoptarse cuando la vigilancia indica que un determinado PCC no está controlado, 6. Establecer procedimientos de comprobación para confirmar que el Sistema de HACCP funciona eficazmente, 7. Establecer un sistema de documentación sobre todos los procedimientos y los registros apropiados para estos principios y su aplicación” (42).

Se ha encontrado que una reducción en la prevalencia de pollo contaminado con *Salmonella* spp se asocia con una disminución en el riesgo de contraer la enfermedad en humanos. Es así que se estimó que una reducción en un 50% de la prevalencia de pollo contaminado, produce una disminución del 50% en el riesgo de enfermar por cada ración de alimento que se consuma (43).

Para reducir la contaminación cruzada, se deben tomar medidas generales de control que incluye la separación física de lugar sucio y limpio en la línea de beneficio evitando la mezcla de personal, equipo, herramientas y aire entre ellos, así como el uso de actividades de limpieza y desinfección estrictas (44).

A continuación, se describen las principales etapas del proceso de beneficio de aves, cuyo diagrama general se presenta en la Figura 2.

Figura 2. Diagrama de flujo proceso de beneficio de aves.



Fuente: Elaboración propia

2.9.1 Transporte

La contaminación externa de aves con *Salmonella* spp puede aumentar durante el transporte debido al estrés y la llegada a la planta de beneficio. Por lo tanto, es importante minimizar el tiempo de transporte y el de retención de las aves antes del beneficio (44).

2.9.2 Recepción y colgado

Este es el punto en el proceso de beneficio donde las aves llegan al establecimiento en guacales, son descargados y colgados en ganchos, antes de la insensibilización y la sangría. Hay posibilidades de contaminación con patógenos entéricos como *Salmonella* spp, debido a su presencia en las plumas, piel, buche, cloaca y heces de las aves. Las condiciones de transporte a la planta de beneficio y manejo durante el descargue pueden causar estrés e incrementar la liberación heces con patógenos y contaminación cruzada de jaulas y aves (14, 45). La prevalencia de *Salmonella* spp en la recepción por lotes, puede influir directamente en la prevalencia en los demás puntos del proceso por contaminación cruzada de lotes contaminados con no contaminados (17). Varios estudios presentan que el beneficio de lotes positivos a *Salmonella* spp aumenta el riesgo de contaminación de los siguientes lotes en la línea de proceso, aumentando 30% a 70% su incidencia (46).

Durante la recepción es muy importante el control que realiza la planta de beneficio sobre el tiempo de retiro del alimento hasta el momento del beneficio. Es necesario que se realice el retiro del alimento en la granja de procedencia para reducir los niveles de contaminación con materia fecal en el beneficio (44, 47), ya que disminuye la cantidad de contenido del tracto gastrointestinal, la cantidad de defecación durante el transporte y facilita la evisceración de aves con intestino vacío según la The National Chicken Council y the National Turkey Federation (48, 49). El beneficio debe realizarse dentro de las 8 a 12 horas posteriores a la extracción de alimento. Este tiempo incluye el tiempo que duran las aves en granja sin alimento, el tiempo de transporte y el tiempo de espera en las instalaciones de la planta, hasta el beneficio. Sin embargo, si el tiempo de ayuno es demasiado largo (>14 horas), las paredes intestinales se vuelven más frágiles, siendo más probable su

ruptura durante la evisceración (50). La reglamentación colombiana (Resolución 242 de 2013) exige un tiempo de ayuno entre 6 a 12 horas (41).

Tiempos de espera en la planta de beneficio, desde que llegan las aves a la planta hasta la hora del beneficio, mayores a 4 horas, se han asociado al aumento en la proporción de canales contaminadas con *Salmonella* spp (51). Adicionalmente, el tiempo de que transcurre desde que las aves son depositadas en los guacales hasta la llegada a la planta de beneficio, es decir el tiempo de transporte también ha sido asociado a aumento en la presencia de patógenos como *Campylobacter* (50), por lo cual podría también estar asociado a la presencia de *Salmonella* spp.

2.9.3 Sacrificio (Insensibilización y sangría)

Este es el punto del proceso de beneficio en el que las aves son insensibilizadas y sangradas. Los métodos de insensibilización usados para producir inconsciencia de las aves en Colombia suelen ser eléctricos logrando una falla cerebral rápida, siendo también un método económico y efectivo de sacrificio de aves de corral. La sangría asegura la muerte y se debe certificar que las aves han parado de respirar antes de que entren al siguiente paso que es el escaldado (14, 41).

2.9.4 Escaldado

Durante esta etapa las aves son sumergidas en agua caliente, lo que facilita la remoción de las plumas. Este es un paso importante donde se pueden reducir los niveles de *Salmonella* de la canal debido a que gran parte de la suciedad y heces con las cuales vienen las aves son removidas. La contaminación con *Salmonella* disminuye considerablemente cuando el escaldado es bien controlado (41). Normalmente las variables de control en este punto (temperatura y recambio de agua) son fijas dentro del establecimiento, por lo cual no se presentará variabilidad en la reducción de *Salmonella* spp por lotes dentro de una misma planta.

2.9.5 Desplume

Es la etapa del proceso de beneficio en la que se remueven las plumas y en algunos casos la capa superficial de la piel antes de evisceración. El desplume frecuentemente resulta en un incremento de contaminación microbiana de las canales, debido al contacto con los dedos de caucho y agua reciclada contaminada (14, 41). Las condiciones de operación en esta etapa no varían a lo largo del proceso en una planta de beneficio.

2.9.6 Evisceración

Este es el punto del proceso donde se remueven los órganos internos de las canales de las aves, en preparación para el enfriamiento. La evisceración incluye múltiples procesos; empieza en el punto de transferencia (por ejemplo, en recolgado), y termina cuando la canal entra al chiller o tanque de enfriamiento. En este punto se remueve la víscera (vísceras comestibles como corazón, hígado y mollejas y vísceras no comestibles como intestinos) por medio mecánico o manual. Si la víscera no es manejada apropiadamente o los empleados no siguen buenas prácticas higiénicas puede ocurrir un incremento de contaminación microbiana (14, 41). Teniendo en cuenta que este es un punto en el cual las condiciones del proceso pueden variar entre lotes, se puede realizar muestreo con el fin de determinar su comportamiento de la presencia de *Salmonella* spp en los diferentes puntos del proceso de beneficio.

Algunas plantas de beneficio utilizan agentes antimicrobianos al final del proceso de evisceración o en el lavado interno y externo con el fin de reducir los niveles de microorganismos en las canales antes de entrar al chiller (18), por lo cual es importante verificar el tipo de producto utilizado, su forma de uso y la concentración, para determinar su influencia en la prevalencia de *Salmonella* en los puntos siguientes del proceso.

2.9.7 Enfriamiento

Este es el punto en el cual la canal eviscerada es enfriada para inhibir crecimiento microbiológico. El tipo de enfriamiento predominantemente usado en el país es el de inmersión en un tanque denominado chiller, método en el que puede resultar en la

propagación de los microorganismos patógenos entre canales, dentro del tanque. Esta contaminación cruzada puede ocurrir cuando no se mantienen condiciones sanitarias en el tanque o cuando las canales entran a este con altos niveles de patógenos (14, 41).

En este punto las plantas de beneficio también utilizan agentes antimicrobianos para disminuir la presencia de *Salmonella* spp (18), por lo cual es importante, igualmente, verificar el tipo de producto utilizado, y la concentración, con el fin de determinar su influencia en la prevalencia de *Salmonella* spp, además se debe controlar la temperatura del pollo a la salida del chiller para evitar las posibilidades de proliferación microbiana. Es muy importante mantener la temperatura del enfriador para garantizar un buen producto al final (49).

2.9.8 Desprese

Es el punto en el cual se divide la canal en las diferentes partes o presas, antes almacenarse. En este punto también se puede realizar procesos adicionales como porcionado, fileteado, molido, marinado y producción de carne mecánicamente separada. Las canales procesadas pueden tener una alta incidencia de patógenos por posible contaminación cruzada entre canales y presas contaminadas con no contaminadas durante el proceso. En esta etapa es necesario que se mantengan buenas prácticas higiénicas para prevenir esta contaminación (14, 41), por lo tanto debe ser verificado y controlado por el establecimiento.

2.9.9 Otros factores asociados:

En un estudio realizado por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority, EFSA), se encontró que el riesgo de que se presenten canales contaminadas con *Salmonella* spp incrementa en las plantas de beneficio cuando hay un alto volumen de producción y en las últimas horas del proceso de beneficio (17). Adicionalmente, en otro estudio realizado por Wideman et al (18), se encontró mayor prevalencia de patógenos en los muestreos realizados en los últimos días de la semana (jueves) que en los primeros días (lunes).

2.10 *SALMONELLA* COMO PROBLEMA

En producción avícola la salmonelosis se puede considerar como un problema de:

Salud animal: enfermedad que genera sintomatología y puede llegar a la muerte. Se caracteriza por disminución en la producción de carne de pollo por la pérdida de peso y disminución en la calidad y cantidad de huevos (26).

Salud pública: se genera por presentar ETA (Enfermedad Transmitida por Alimentos) que se da por el consumo de alimentos contaminados como carne de pollo y huevos (26).

2.11 DIAGNÓSTICO

2.11.1 Diagnóstico Microbiológico:

Se realiza por la detección de la bacteria mediante el empleo de medios de cultivo selectivos y después la caracterización mediante pruebas bioquímicas (52).

- Etapa de Pre-enriquecimiento: se realiza a partir de medios de cultivo no selectivos como agua peptonada, caldo nutritivo, que se llevan a incubación a 37° durante 18 a 24 horas (52).
- Etapa de Enriquecimiento selectivo: este proceso permite el crecimiento de *Salmonella* spp. Inhibiendo el crecimiento de la flora acompañante, los caldos específicos utilizados son Caldo Tetrionato-Bilis-Verde Brillante que inhibe el crecimiento de coliformes y Caldo Rappaport-Vasiliadis (RV) (52).
- Etapa de Aislamiento en medios selectivos: esta etapa permite la diferenciación de colonias de *Salmonella* con otras bacterias, mediante medios de cultivo que permiten el crecimiento de la bacteria con características específicas (52). Los medios que se utilizan son: agar Hektoen enterico (HE) que produce colonias azules o verde azuladas con o sin centro negro, el agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) tiene crecimiento de colonias rosadas con o sin centro negro o colonias totalmente negras y el agar Bismuto Sulfito (BS) con colonias marrones, gris o negras, a veces con brillo metálico (52).

- Pruebas bioquímicas diferenciales: en este proceso se diferencian las bacterias por su actividad metabólica, utilizando pruebas bioquímicas diferenciales como agar triple azúcar hierro (TSI) y el agar Lisina hierro (LIA) y complementarias como urea, fermentación del dulcitol, y producción del indol (52).

2.11.2 Métodos serológicos.

Métodos en los cuales se llevan a cabo ensayos para la unión de Antígeno- anticuerpo como la prueba de ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), se basa en la detección específica de un antígeno determinado por el uso de anticuerpos unidos de manera específica (52). Es una alternativa indirecta de la infección, especialmente cuando no se puede aislar la bacteria o por estado tardío de la infección.

2.11.3 Métodos basados en ácidos nucleicos

Se basa en las técnicas de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (qPCR), pirosecuenciación o amplificación basada en la secuencia del ácido nucleico (52)

- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): es una técnica de alta sensibilidad, especificidad, reproducibilidad y eficiencia que genera resultados rápidos y confiables (52), con cantidades pequeñas de ADN, que son sintetizadas y copiadas con el fin de analizarse (53). Su objetivo es la multiplicación de una secuencia específica de ADN (ácido desoxirribonucleico) por medio de la enzima ADN polimerasa durante varios ciclos (53). Para la realización de este método se siguen los siguientes pasos:

✓ Desnaturalización: el ADN es desnaturalizado por medio de altas temperaturas de 90 a 100 °C donde las hebras de ADN son separadas generando moléculas de cadenas simples (53, 54).

✓ Hibridación: las hebras de cadenas simples son incubadas entre 50-60 °C con Primers (Secuencia de oligonucleótidos) y cloruro de Magnesio con el fin de formar cadenas por apareamiento complementario de bases (53, 54).

- ✓ Extensión: en este paso la enzima Taq polimerasa actúa a 72 °C sobre las nuevas estructuras agregando dNTP's complementarios generando cadenas completas de ADN (54).
- ✓ Para visualizar la reacción se debe realizar una electroforesis en gel de agarosa (54).

La especificidad y la sensibilidad de los métodos moleculares depende del gen (secuencia) con el cual se trabaja, como se estableció en un estudio realizado por Pedraza, José et al (55), donde se realizó comparación de diferentes métodos moleculares para la detección de *Salmonella* spp en heces, por ejemplo para PCR convencional con el gen *invA*, *InvE* la especificidad fue de 98,6% y sensibilidad del 80%, con una duración de 24 horas.

PCR tiempo real: Es la recolección continua de señal fluorescente de una o más reacciones en cadena de la polimerasa en un rango de ciclos (56). Es una PCR que emplea sondas específicas para detectar el ADN durante la amplificación, mediante la hibridación con amplicones. Estas sondas se encuentran unidas a fluoróforos que producen fluorescencia cuando se une con la secuencia diana en este caso es una secuencia de ADN específica de *Salmonella* spp. Si no hay presencia de ADN diana no se produce fluorescencia. A medida que aumenta la amplificación de ADN (amplicones) con cada ciclo, es directamente proporcional a la intensidad de fluorescencia. Este nuevo desarrollo tecnológico eliminó la contaminación por arrastre al desarrollar toda la reacción y cuantificación en el tubo de PCR sin necesidad de abrirse (52). Permite cuantificar la cantidad de ADN en la muestra y adicional es una prueba que dura menos tiempo.

Conforme al estudio de Pedraza, José et al el método de PCR en tiempo real mostró una especificidad para el gen *InvA*, *prot6E*, *fliC* del 100% y una sensibilidad del 100%, con una duración de 8 horas.(55).

La prueba PCR en tiempo real ha demostrado mayor eficiencia, sensibilidad, rapidez que el método convencional y constituye una alternativa para confirmar diagnósticos, así como en casos dudosos de salmonelosis con cultivos microbiológicos negativos debido a la baja carga del microorganismo debido a un tratamiento con antibióticos, Sin embargo, la PCR

complementa pero no reemplaza las técnicas microbiológicas necesarias para propósitos epidemiológicos (55).

3 HIPÓTESIS

Hipótesis Conceptual

Existen factores asociados con la presencia de *Salmonella* spp en las etapas de recepción y salida de chiller en la planta de beneficio de aves en Bogotá, durante el mes de abril de 2018.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Explorar los factores asociados con la presencia de *Salmonella* spp en las etapas de recepción y salida de chiller en una planta de beneficio de aves ubicada en Bogotá D.C. durante el mes de abril de 2018.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características generales de la granja de procedencia, transporte, la planta de beneficio y de la población a estudio.
- Establecer la presencia de *Salmonella* spp en las etapas del proceso de recepción, evisceración y salida de chiller, a través de la técnica PCR tiempo real.
- Estimar la asociación ajustada entre las características de la granja de procedencia y el transporte con la presencia de *Salmonella* spp en la etapa de recepción.
- Estimar la asociación ajustada entre características del proceso de beneficio con la presencia de *Salmonella* spp en la etapa de salida de chiller.

5 METODOLOGÍA

5.1 ENFOQUE METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN

El presente proyecto de investigación tiene un enfoque cuantitativo, en el que se estimó la prevalencia de *Salmonella* spp en las aves en las etapas de recepción, evisceración y salida de chiller y se estableció la asociación estadística de la presencia de *Salmonella* spp en las etapas de recepción y salida del chiller con las características de la granja de procedencia, el transporte y la planta de beneficio.

5.1.1 Tipo y diseño de estudio

Estudio epidemiológico, observacional, descriptivo, de corte transversal con componente analítico – exploratorio, realizado en dos momentos del proceso de beneficio (recepción y salida del chiller).

5.1.2 Población

Las poblaciones que fueron tenidas en cuenta para el presente estudio correspondieron a:

- Población o universo: aves de engorde beneficiadas en Bogotá D.C.
- Población elegible: aves de engorde beneficiadas en una planta de la ciudad de Bogotá D.C.
- Población objetivo: aves de engorde beneficiadas en una planta en la ciudad de Bogotá D.C. durante el mes de abril de 2018 y que fueron incluidas en la muestra del estudio.
- Población de estudio: aves de engorde beneficiadas en una planta en la ciudad de Bogotá D.C. durante el mes de abril de 2018 e incluidas en la muestra del estudio.

5.2 DISEÑO MUESTRAL

El presente estudio se realizó a partir de una muestra no probabilística limitada por recursos financieros destinados al proyecto (número de muestras para PCR tiempo real – 3 kits para *Salmonella* spp). No obstante, se planificaron y ejecutaron procesos de muestreo, con el fin de lograr proporcionalidad en los métodos de recolección de las muestras biológicas. En total se analizaron 288 muestras biológicas como capacidad máxima de análisis. De estas, 39 fueron usadas para estandarizar las pruebas (controles de prueba, confirmaciones de prueba y prueba piloto) y 249 para cumplir los objetivos del estudio. Estas últimas representaron un total de 878 aves, como se describe a continuación.

5.2.1 Cálculo del tamaño de la muestra

La distribución porcentual de las muestras se llevó a cabo tomando como base un muestreo para determinar una proporción en población infinita, el cual se fue aplicado de manera independiente en 3 momentos (recepción, evisceración y salida de chiller); para este proceso se tuvo en cuenta los estimadores reportados por Rivera-Perez W, Baquero -Calvo E y Zamora- Sanabria R (46).

- Inicio de proceso: 60%
- Evisceración: 40%
- Chiller: 10%.

Adicionalmente, se tuvieron en cuenta los parámetros de confianza 95% y error absoluto 5%; los cálculos fueron realizados en el software Epidat 4.2.

De esta forma, los muestreos calculados para cada una de las etapas se relacionan en la tabla No. 1.:

Tabla 1. Número de muestras calculadas en cada etapa del proceso a través del software Epidat 4.2.

Etapa del proceso	Efecto del diseño 1,0	Efecto del diseño 1,5	Efecto del diseño 2,0	Efecto del diseño 2,5	Efecto del diseño 3,0	Proporción
Recepción	370	554	738	922	1107	42,1%
Evisceración	370	554	738	922	1107	42,1%
Salida de chiller	138	208	277	346	415	15,8%
TOTAL	878	1316	1753	2190	2629	100%

De acuerdo con lo mencionado, para el número de muestras biológicas a analizar mediante PCR tiempo real, se decidió por parte de los investigadores acoger el muestreo que involucra 878 sujetos (aves). La representatividad de cada una de las muestras biológicas en las etapas del proceso y el método de recolección, son discutidos en el capítulo de 5.2.2. estrategia de muestreo.

El análisis de las muestras biológicas se realizó a través de la técnica de Polymerase chain reaction real time - PCR tiempo real en el Laboratorio Animed, quienes patrocinaron el uso de 3 kits para *Salmonella* de los materiales para el proceso y montaje. Este laboratorio cuenta con el registro ICA otorgado bajo Resolución 002890 del 2 de septiembre de 2010 con resoluciones modificatorias 003082 del 22 de julio de 2011 y 000806 del 11 de marzo de 2014 como laboratorio de diagnóstico veterinario.

5.2.2 Estrategia de muestreo

Las aves provenían de 68 granjas ubicadas en 3 departamentos de Colombia, Cundinamarca, Meta y Tolima. El volumen de beneficio diario de la planta, estaba en el rango de 62.000 a 92.000 aves distribuidos entre 15 a 30 viajes por día. Los días de beneficio de la planta eran de domingo a viernes, en horarios que oscilaban desde las 5:00 p.m. hasta las 5:00 a.m. del día siguiente.

La planta no contaba con cronograma de beneficio por granja, por lo cual no fue posible identificar previamente las granjas de procedencia o los viajes en los cuales se realizaría

el muestreo, por tanto, no fue posible establecer un marco muestral sistematizado. Considerando lo anterior, el número de muestras se distribuyó de manera proporcional en cuatro días, sin conocer las características de las granjas que disponían sus animales para beneficio.

Los días de muestreo se seleccionaron, de tal forma que se incluyeran diferentes días de la semana, escogiendo dos en los tres primeros días (domingo a martes) y dos en los últimos días (miércoles a viernes). Así mismo, se seleccionaron las horas en las cuales se realizaría el muestreo, de tal forma que en dos días se tomarían muestras de los primeros viajes y en los otros dos días en los últimos viajes del día del proceso. Estas selecciones no se realizaron de manera aleatoria, sino mediante la lógica de mantener igualdad en la estrategia de muestreo, por día y por horas.

Para cada día de muestreo se tomaban muestras de 3 viajes diferentes, por lo cual el número de muestras para cada día y etapa de proceso se dividía en 3.

En cada una de las etapas el método de recolección de muestras biológicas fue el siguiente:

- **Recepción:**

En la etapa de recepción se tomaron muestras de 370 aves, teniendo en cuenta que los animales llegan en guacales y cada uno de ellos transporta 10 animales, se procedió a realizar la toma de muestras biológicas (materia fecal) mediante hisopos en 37 guacales, de tal forma que cada hisopo contenía la muestra biológica correspondiente a 10 aves. Este número de muestras se distribuyó en los 4 días de muestreo, por tanto, el primer día se tomaron muestras correspondientes a 90 aves (9 hisopos), el segundo a 100 aves (10 hisopos), el tercero y el cuarto día a 90 aves cada día (9 hisopos cada día).

Se realizó el muestreo de 3 o 4 guacales por viaje, lo que se definió de acuerdo con el día de muestreo. Se estimó el tiempo de duración del colgado de las aves del viaje y se dividió

por 3 o 4 obteniendo el lapso de tiempo transcurrido entre el muestreo de un guacal y el siguiente.

Por ejemplo, para un viaje con 3 guacales muestreados la operación duró 20 minutos, por tanto, se realizó el muestreo de un guacal cada 6 minutos ($20\text{min} / 3 \text{ guacales} = 6 \text{ minutos}$).

- **Evisceración**

En esta etapa se realizó el muestreo de 370 aves, a través de enjuague en agua peptonada de las canales; cada enjuague contenía el material biológico de 5 aves, por lo cual se analizaron 74 enjuagues, cada uno correspondiente a 5 aves.

De acuerdo con el número de días de muestreo (4 días) y el número de enjuagues, se tomaron muestras correspondientes a 90 aves el primer día (18 enjuagues), 95 aves el segundo día (19 enjuagues), 95 aves el tercer día (19 enjuagues) y 90 aves el cuarto día (18 enjuagues). Por ejemplo, supóngase que en el primer día de muestreo se dividió la cantidad de enjuagues con los que se contaban (18 enjuagues) y el número de viajes a muestrear ese día (3 viajes). Por lo cual, a cada viaje le correspondió 6 enjuagues en total, lo que concierne 30 aves para cada viaje (donde un enjuague corresponde a 5 aves).

El punto donde se realizó el muestreo biológico fue al final del proceso de evisceración, antes de la caída de las aves al tanque de pre-enfriamiento (prechiller). La línea de proceso donde van las aves durante la evisceración tiene un mecanismo de cuantificación, cada 25 aves. Una vez se conoció el número de aves del viaje seleccionado, se dividió por el número de aves a muestrear en el viaje, con el fin de conocer el rango para la selección de las aves. Es decir, si un viaje tenía 2000 aves y se debían tomar 30 aves para el muestreo (6 enjuagues), se seleccionaba un pollo cada 50 aves, teniendo en cuenta que $2000/30=66,66$ número que era mayor que 50 y menor de 75. esto se realizó para poder muestrear todo el viaje.

- **Chiller**

En esta etapa se realizó el muestreo biológico de 138 aves, mediante enjuague de aves individuales, por lo que cada enjuague representaba el muestreo de 1 canal (1 ave).

Teniendo en cuenta que los viajes en el tanque del prechiller y posteriormente en chiller, se mezclaban, para tomar aves de los viajes seleccionados, fue necesario marcarlos en la etapa de evisceración antes de caer al prechiller.

Considerando que el número de sujetos a muestrear en este punto del proceso fue de 138, se dividió de manera proporcional el muestreo en los 4 días, se tomaron muestras correspondientes a 34 aves el primer día, 35 aves el segundo día, 35 el tercer día y 34 aves el cuarto día. Así mismo, dividiendo el número de aves por número de viajes diarios, se tomaron 11, 12 o 13 canales por viaje.

Para la selección de las canales se dividía el número de aves del viaje a muestrear por 11, 12 o 13 y el intervalo para la selección de las canales era el múltiplo de 25, inferior, más cercano al resultado. Por ejemplo, un viaje de 1700 aves en el cual se muestrearon 11 canales, en ese viaje se dividió $1700/11=154,54$. De acuerdo a esto se seleccionó una canal cada 150, que es el número múltiplo de 25 menor que el resultado obtenido. Una vez seleccionado, se identificaba con la tirilla y se arrojaba al prechiller.

En la salida del chiller se esperaron y seleccionaron las aves identificados con las tirillas para cada viaje y se tomó la muestra respectiva. Se realizó un enjuague por cada pollo seleccionado.

En la tabla 2 se presenta la distribución de las muestras por los días de muestreos, para cada etapa de proceso:

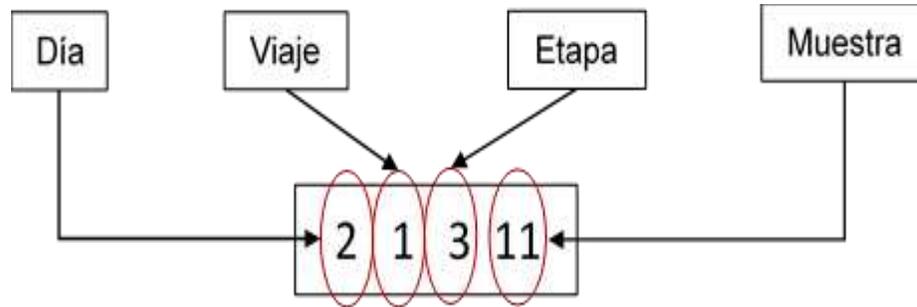
Tabla 2. Distribución del número de aves muestreadas pos día y etapa de proceso.

Día de muestreo	Recepción		Evisceración		Chiller		Total	
	No. aves	No. muestras analizadas	No. aves	No. muestras analizadas	No. aves	No. muestras analizadas	No. aves	No. muestras analizadas
Día 1	90	9	90	18	34	34	214	61
Día 2	100	10	95	19	35	35	230	64
Día 3	90	9	95	19	35	35	220	63
Día 4	90	9	90	18	34	34	214	61
Total	370	37	370	74	138	138	878	249

Una vez los investigadores se encontraron en la planta de beneficio el día y hora seleccionado, la planta informó el cronograma tentativo de beneficio del día, debido a que podía haber variaciones, especialmente del orden de ingreso de las aves. Con esta información se escogieron los viajes en los cuales se tomarían las muestras. Teniendo en cuenta que la planta de beneficio prestaba sus servicios a clientes terceros, cuyas aves provenían de otras granjas diferentes a las granjas de la empresa, se definió como criterio de exclusión los viajes pertenecientes a clientes externos, debido a que no era posible obtener la información relacionada con la granja de procedencia.

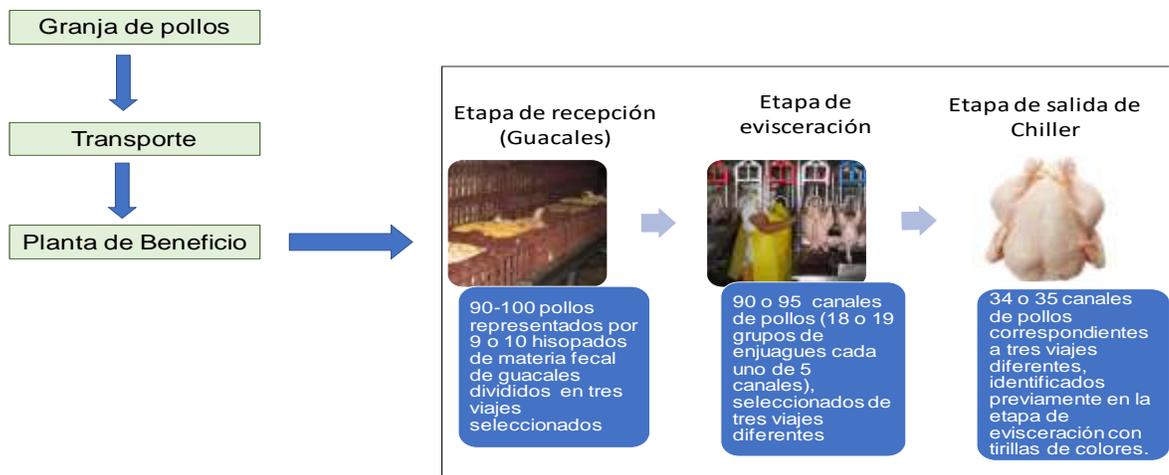
El día de muestreo las investigadoras dispusieron de todo el material necesario para realizar la toma de muestras biológicas.(dotación, bolsas con agua peptonada estériles, hisopos, neveras, refrigerantes, listas de chequeo) y procedieron a realizar la identificación de las bolsas, de la siguiente forma: cada muestra se identificó con un número que incluía un dígito que correspondía al día de muestreo (1 al 4), otro dígito correspondiente a el número de viaje muestreado (1 al 3), otro concerniente a la etapa de proceso (1 al 3, donde 1 era recepción, 2 evisceración y 3 chiller) y un consecutivo, de acuerdo al número de muestras de cada etapa del proceso. De esta forma, por ejemplo, el número de muestra 21311 correspondería a la muestra tomada el día 2, del viaje 1 de ese día, de la etapa chiller y sería la muestra 11 de esta etapa para ese viaje, de acuerdo al número de muestras por día, codificación que se presenta en la Figura 3.

Figura 3. Codificación para la identificación de las muestras



Una vez identificadas las bolsas que contenían las muestras, se procedió a realizar el muestreo en cada punto del proceso, de acuerdo a lo descrito en la figura 4.

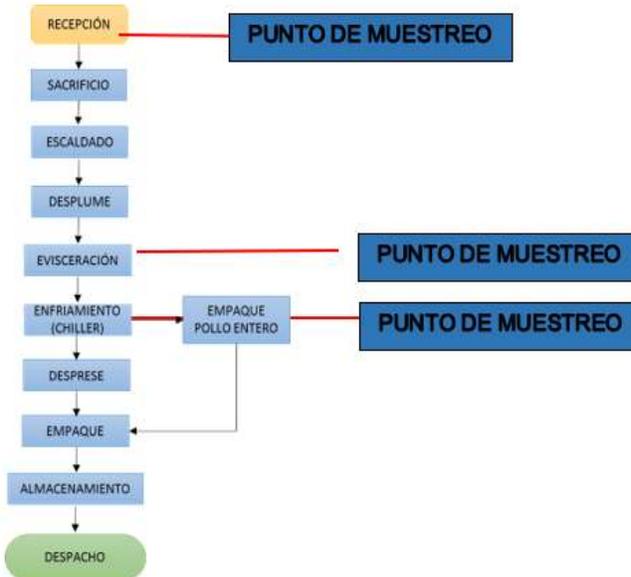
Figura 4. Selección de muestras



Fuente: elaboración propia

En la figura 5 se presenta el diagrama de flujo de proceso de beneficio donde se ilustran los puntos en los cuales se realizó el muestreo.

Figura 5. Representación de los puntos de en los cuales se realizó el muestreo dentro del flujo del proceso de beneficio.



Fuente: elaboración propia

Una vez recolectadas las muestras biológicas, se identificaron, se almacenaron en neveras destinadas para este fin y se llevaron al laboratorio Animed donde fueron procesadas y analizadas, siguiendo los procedimientos estandarizados. En la lista de chequeo también se diligenciaron los números de identificación de las muestras.

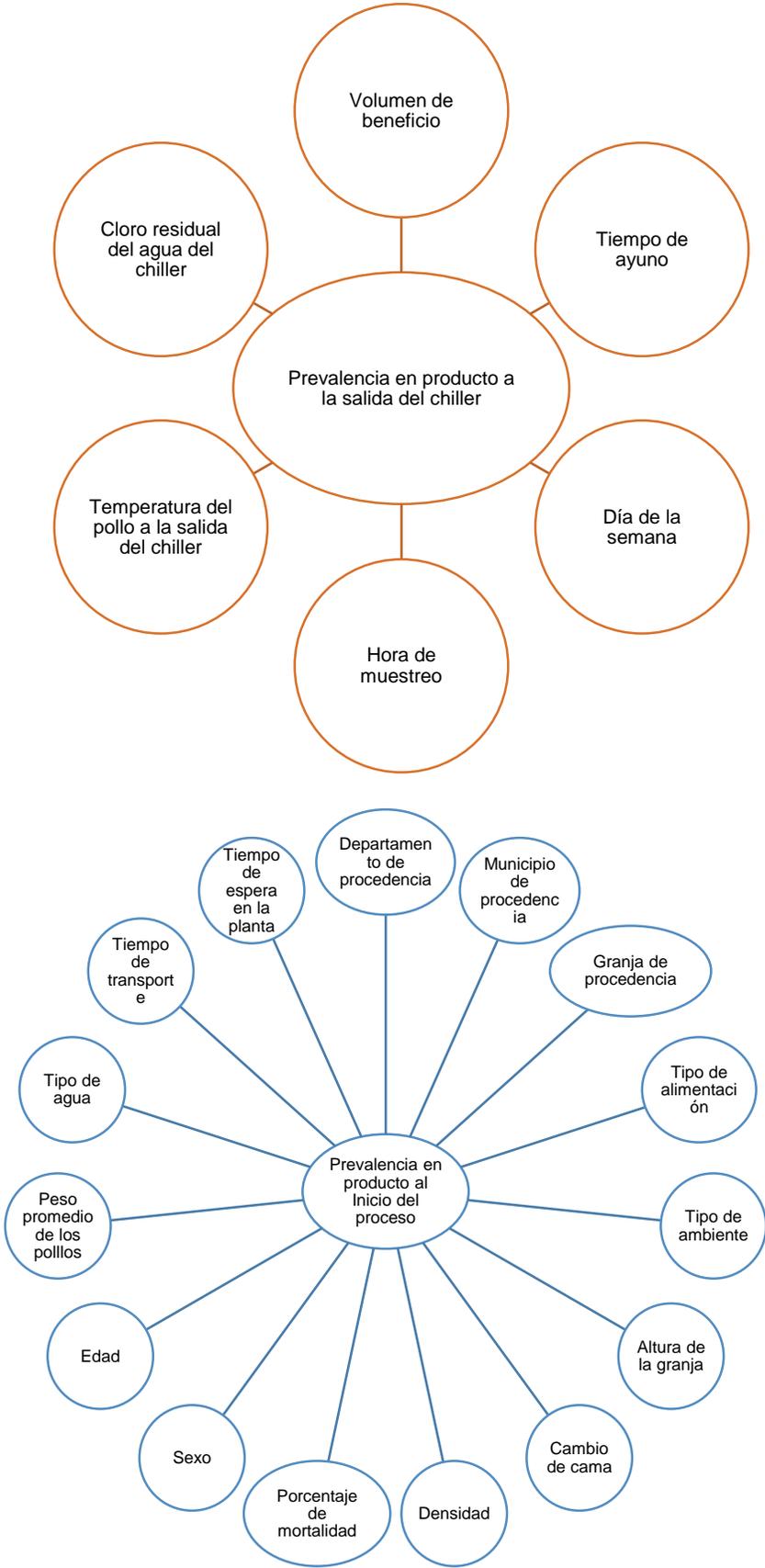
5.3 DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES:

Las variables que se utilizaron en el proyecto se describen en el anexo A y son las siguientes:

5.3.1 Diagramas de las variables

Figura 6. Diagrama de la variable dependiente "Prevalencia de *Salmonella* spp en etapa de recepción".

Figura 7. Diagrama de la variable dependiente "Prevalencia de *Salmonella* spp en etapa de salida del chiller".



5.3.2 Agrupación de las variables en categorías:

- Características de la planta de beneficio: en esta categoría se agrupa la información volumen de beneficio total, día del proceso, hora de proceso en que inicia el muestreo, tiempo de espera de la planta de beneficio, temperatura del pollo a la salida del chiller. Esta agrupación obedece a que se incluyen las variables relacionadas con la programación del proceso en la planta de beneficio durante cada día en el cual se realizó la toma de las muestras.
- Prevalencia de salmonella spp en las etapas de proceso: Prevalencia Inicial (Recepción), Evisceración y Chiller. En esta categoría se agrupan los resultados del muestreo realizado para cada una de las etapas de proceso, a través del análisis de las muestras por medio de la técnica de PCR tiempo real.
- Granja de procedencia y transporte: departamento de procedencia, municipio de procedencia, nombre de la granja, densidad, tipo de alimentación, tipo de ambiente, altura de la granja, cambio de la cama, tipo de agua, edad, peso promedio, horas de ayuno, tiempo de duración del transporte desde la granja. En esta categoría se agrupan las variables relacionadas con la granja de donde provienen las aves a muestrear, y al transporte de este.

5.4 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN:

5.4.1 Fuentes de información

Las fuentes de información fueron primarias, teniendo en cuenta que se realizó el muestreo directamente por las investigadoras, se usaron listas de chequeo durante los muestreos y adicionalmente se diligenciaron encuestas por parte de los veterinarios de las granjas de procedencia de las aves con el fin de obtener información relacionada con estas.

5.4.2 Instrumento de recolección de información

Se recolectó la información relacionada con las granjas de procedencia de las aves, por medio de una encuesta diseñada en el software Epi Info versión 7.2, que fue diligenciada por los médicos veterinarios que laboran en estas granjas, posteriormente a realizar el

muestreo, la cual se encuentra en anexo B. Las preguntas que se incluyeron en esta encuesta se refieren a aspectos generales de las granjas de procedencia de las aves y de los lotes muestreados relacionados con ubicación (nombre, departamento, municipio, altura sobre el nivel del mar), instalaciones (capacidad instalada, tipo de ambiente, tipo de alimentación, tipo de agua, número de galpones) y condiciones del lote muestreado (No. de pollos, densidad, fecha de encasamiento, fecha de sacrificio, tipo de cama, uso de cama reutilizada y porcentaje de mortalidad), que son aspectos generales de los cuales los Médicos Veterinarios llevan registros y en dado caso podríamos comprobar su veracidad, sin necesidad de acudir o hacer presencia en las granjas. Con este estudio, se pretende conocer aspectos generales de las granjas de donde proceden las aves a ser muestreadas, con el fin de buscar algunos factores que puedan estar asociados con la presencia de *Salmonella* spp en la etapa de recepción, sin realizar una evaluación completa las medidas de bioseguridad de estas.

Durante los cuatro días en los cuales se realizó el muestreo se diligenciaron listas de chequeo diseñadas en el software Epi Info versión 7.2 (anexo C) por parte de las investigadoras, donde se recolectó la información relacionada con la planta de beneficio para cada una de las granjas de las cuales provenían las aves muestreadas. Durante el muestreo piloto, se realizó piloteo de los instrumentos para la recolección de la información, efectuando una valoración de su utilidad, con el fin de poder verificar el grado de factibilidad para obtener la información que tenía cada ítem, determinar si se podía llevar un control y evaluar detalladamente el desarrollo de la investigación de manera coherente y efectiva.

5.4.3 Proceso de obtención de la información (qué, quién, cómo, cuándo)

Se realizaron visitas previas con el fin de obtener información general del establecimiento. La toma de las muestras, la recolección de la información y el análisis de las mismas fueron realizadas por las autoras del proyecto de acuerdo con los procedimientos establecidos en el laboratorio de diagnóstico Animed.

Se realizó un cronograma de los días de muestreo conforme con lo determinado en el diseño muestral, por lo cual el diligenciamiento de las listas de chequeo, la toma de las

muestras y análisis de las mismas se llevaron a cabo en los días y horas establecidos en este cronograma.

La información recolectada de las listas de chequeo, de la encuesta y de los resultados de las muestras se digitalizó en el programa de Excel, donde se identificaron cada una de las variables tenidas en cuenta.

- Toma de muestras

En la etapa de recepción se tomaron muestras en guacales. El muestreo se realizó a través de hisopos humedecidos con agua peptonada bufferada los cuales fueron transportados en refrigeración hasta el laboratorio. Cada muestra representa 10 aves correspondientes a un mismo viaje. En la etapa de proceso de evisceración el muestreo se realizó a través de enjuague de canales enteras donde cada muestra estaba conformada por un pool de 5 aves. Para la etapa de salida de chiller se realizó enjuague de canal entera. Estas muestras se tomaron usando la metodología sugerida por el Servicio de Seguridad e Inspección de Alimentos de los Estados Unidos, FSIS (57).

Enjuague de canales o presas: las canales evisceradas fueron colocadas en una bolsa plástica estéril con 400 ml de agua peptonada al 0.1%, se agitó en forma vigorosa por un minuto y el líquido de enjuague era transferido a un envase estéril como se muestra en la figura 8. Se etiquetaba cada frasco con la información apropiada (identificación de la muestra y clase de la misma asegurándose de que la identificación del frasco se pudiera remitir a la hoja de datos donde existía más información sobre la muestra. Se registró el número del frasco de la muestra en la lista de chequeo que se diligenció durante el muestreo.

Figura 8. Técnica de muestreo por enjuague de canales



Fuente: “Imported raw poultry products sampled for salmonella and campylobacter analysis”(58)

Las muestras llegadas al laboratorio Animed fueron pasadas a frascos estériles ya rotulados con el número de muestra y se añadieron 40 ml de la muestra a cada frasco correspondiente en la cabina de seguridad biológica tipo 2 y previamente fueron incubadas a 37°C por 21 Horas para realizar su enriquecimiento según kit de iQ-Check *Salmonella* II, protocolo Easy I (Anexo E). El kit cuenta con la certificación de calidad del instituto de investigación AOAC, certificación de validación NF en ISO 16140 y validación NORDVAL y permite detectar 1 a 10 unidades formadoras de colonia (UFC) por cada 25 gramos de muestra o bien, al final del enriquecimiento sería 100 UFC/ml (59).

Extracción del ADN: se realizó por medio de una técnica estandarizada de la casa comercial Bio-Rad según kit de iQ-Check *Salmonella* II, protocolo Easy I Anexo E.

- La cabina de seguridad biológica tipo A2 se colocó en luz ultravioleta durante 30 minutos, pasado este tiempo se limpió con RNase AWAY para comenzar con la extracción.

- Antes de empezar la prueba, se encendió el bloque térmico seco para su previo precalentamiento entre un rango de temperatura de 95°C - 100°C. En este caso se fijó a 97°C.
- Se marcaron los tubos con el número de la muestra, tanto los del procedimiento como los del producto final.
- Se abrieron los tubos con precaución para evitar contaminación cruzada.
- Se pipetearon 100 µl de reactivo de lisis A, mientras se removía a velocidad media con la varilla magnética que contiene la botella con el fin de mantenerlo en suspensión.
- Se añadieron 100 µl de la muestra enriquecida.
- Se pasaba la muestra por vortex
- Se Incubaron los tubos en el bloque térmico a 97°C por 15 minutos
- Se colocaron nuevamente las muestras en vortex
- Los tubos fueron centrifugados a 12.000 g durante 2 minutos.
- El sobrenadante se debía pasar a unos nuevos tubos marcados previamente. En este paso se podía parar la prueba y conservarse hasta 1 año a -20°C. Si se deseaba utilizar después de haberlo almacenado se debía descongelar, homogenizar y luego centrifugar entre 10.000-12.000 g, durante 5 minutos.

Preparación de la mezcla PCR según técnica estandarizada del kit *iQ-Check Salmonella II*, protocolo Easy I Anexo E.

- Se preparó una mezcla PCR que contiene la solución de amplificación (reactivo C) y las sondas fluorescentes (reactivo B) en función del número de muestras y controles que se iban a analizar (como mínimo se debía incluir un control positivo y uno negativo en cada serie analítica PCR).
- Tras la preparación del mix, reactivo B + C, se pipeteo 45 µl de dicha mezcla en cada pocillo según la cantidad de muestras en la placa.
- Se añadían 5 µl de muestra, control negativo y control positivo en el pozo adecuado sin generar burbujas.
- Se debía sellar herméticamente los pocillos de la placa, darle un Spin a la placa

7 y colocarla placa en el termociclador.

PCR en Tiempo Real

Esta técnica utiliza un sistema optimizado de cebadores y sondas para asegurar una alta especificidad y eliminar reacciones cruzadas. Las lecturas se realizaron mediante un software para el análisis automatizado específico de la prueba.

En la tabla 3 se presentan la interpretación de los posibles resultados.

Tabla 3. Interpretación de resultados

	Detección <i>Salmonella</i> (FAM)	Detección control interno
Control negativo	Ct = N/A No amplificación	$28 \leq Ct \leq 40$
Control positivo	$26 \leq Ct \leq 36$	No significativo

Para que una muestra de *Salmonella* sea positiva debe presentar un valor $Ct \geq 10$ en el fluoróforo FAM.

La muestra se considera negativa para *Salmonella* si no se obtiene ningún valor Ct para el fluoróforo FAM y el control interno tiene un $Ct \geq 28$.

En la tabla 4 se presentan los posibles resultados obtenidos.

Tabla 4. Posibles resultados

Detección <i>Salmonella</i> (FAM)	Detección control interno	Interpretación
$Ct \geq 10$	No significativo	Positivo
Ct = N/A	$Ct \geq 28$	Negativo
Ct = N/A	Ct = N/A	Inhibición

Inhibición: Cuando tanto la detección del control interno como la de *Salmonella* presentan un valor $Ct = N/A$, la muestra debe analizarse de nuevo pero diluida (1/10).

5.5 PRUEBA PILOTO

Una vez el proyecto fue aprobado por el Comité de Ética y se contó con la autorización de la planta de beneficio, se realizó una prueba piloto, tomando dos muestras en cada una de las etapas en las que se llevaría a cabo el muestreo (seis muestras), se diligenció la lista de chequeo diseñada para la planta de beneficio con el fin de establecer su funcionalidad, y se realizó el análisis de las muestras en el laboratorio.

5.6 CONTROL DE ERRORES Y SESGOS

Tabla 5. Control de errores y sesgos.

Tipo	Descripción de la posibilidad de ocurrencia	Forma de control
Selección	<p>La selección de las muestras podría estar influenciada, ya sea por el establecimiento o por los investigadores, de tal forma que no se representa la población total. Los sujetos son representativos de ellos mismo y con el estudio no se pretende realizar inferencias diferentes a la de la población de estudio</p>	<p>Se estableció un cronograma de muestreo, se determinaron los días y las horas exactas en las que se inició el muestreo y se especificó la forma en la cual se seleccionaron los guacales o canales de aves para cada día. Se buscó proporcionalidad en tiempos y poblaciones mas no representatividad por tanto los resultados del estudio serán inferibles solo a los sujetos incluidos</p>
Información	<p>Errores en la tabulación de los datos, en la recolección de la información de la llegada de las granjas a la planta de beneficio. Error en la técnica de PCR tiempo real por parte del observador. Sesgos de memoria por parte de los médicos veterinarios que diligenciaron las encuestas</p>	<p>Se realizó doble ingreso de los datos. La información de las granjas de procedencia se controló a través del diseño de las preguntas de la encuesta que fueran fáciles para el Médico Veterinario y con información que registran rutinariamente. Se aseguró la calidad, se realizó preparación de las investigadoras para indagar los mismos aspectos. Piloto del instrumento. Confidencialidad de los encuestados. Una de las investigadoras,</p>

Tipo	Descripción de la posibilidad de ocurrencia	Forma de control
Confusión	Asociaciones con variables de confusión al determinar los factores que influyen con la presencia de <i>Salmonella spp</i>	<p>quien se encargó del procesamiento de las muestras mediante la prueba de PCR tiempo real fue capacitada de acuerdo a procedimiento interno establecido por el Laboratorio Animed, con quien labora (anexo D).</p> <p>El sesgo de memoria se controló teniendo en cuenta que el tiempo transcurrido entre la realización del sacrificio de cada viaje y el diligenciamiento de la encuesta no superó una semana, adicionalmente, los médicos veterinarios cuentan con registros de la información solicitada.</p> <p>Se revisó literatura para identificar variables confusoras con el fin de realizar análisis estratificado, no obstante, no fue posible encontrar reportes de variables confusoras. Se realizó análisis multivariado de regresión logística con el fin de ajustar los estimadores de asociación</p>

5.7 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS

Los datos generados fueron analizados de acuerdo con los objetivos; las descripciones univariadas para determinar las características de la planta de beneficio y la prevalencia de la enfermedad, se realizaron a través de frecuencias absolutas y relativas, y las variables cuantitativas a través de medidas de resumen. El análisis bivariado fue llevado a cabo, con el fin de establecer la asociación de las variables independientes seleccionadas con la presencia de *Salmonella spp* en cada uno de los momentos del proceso. Este

análisis abarcó el cálculo de razones de prevalencia con IC del 95% para el estimador a partir de la construcción de tablas de 2 x 2.

Las variables cuantitativas fueron analizadas mediante pruebas no paramétricas y su valor de p fue comprado con un alfa de 0,05 definiendo como significativas las asociaciones que presentaron un valor inferior al límite propuesto.

Con el fin de ajustar las asociaciones por variables confusoras y de interacción, se realizó una regresión logística no condicional para establecer las variables que mejor explican la prevalencia, las variables candidatas a ingresar al modelo multivariado fueron escogidas a partir del criterio de Hosmer – Lemeshow (valor de $p < 0,25$), con el fin de ingresar variables que en análisis bivariado podrían no estar asociadas, pero al ingresarlas al modelo multivariado pueden generar asociación. En el modelo de regresión logística las variables que se incluyeron tanto en recepción como en chiller fueron variables con un valor de $p < 0,25$, a excepción de las siguientes variables: cantidad de aves beneficiadas en día del muestreo, debido a que puede haber una interacción con las horas de proceso; la variable ayuno por presentar cerca del 50 % de datos perdidos, y la variable cloro residual en agua de chiller debido a que el nivel de cloro que se maneja en la planta de beneficio (1.0-1.5 ppm) siempre se encontró dentro del rango establecido por la reglamentación nacional para agua potable (0.3-2.0 ppm)(60). Aunque el agua de chiller no se puede considerar potable, estos niveles indican que en el chiller se mantiene un nivel de cloro disponible para disminuir carga bacteriana. Los Odds Ratio - OR arrojados por los modelos ajustados, debieron ser ajustados a partir de Schiaffino (61) con el fin de encontrar las razones de prevalencia ajustadas con si IC 95%. Se usaron los softwares estadísticos Epi info™ 7.2 de licencia libre y SPSS versión 24, licencia de la Universidad del Rosario.

6 CONSIDERACIONES ÉTICAS

No existen conflictos de intereses por parte de las investigadoras.

Se solicitó consentimiento a las personas responsables de la planta de beneficio para realizar las preguntas relacionadas con el proceso, necesarias para diligenciar la lista de chequeo que se utilizaría y se estableció un acuerdo de confidencialidad (Anexo F) donde el nombre de la empresa y los nombres de las granjas de procedencia fueron cegados por aspectos éticos.

En lo que respecta a las consideraciones éticas relacionadas con el muestreo, la Ley 84 de 1989 y el título V de la Resolución 8430 de 1993, establecen los requisitos en Colombia para el uso de animales vivos en experimentos e investigación. Sin embargo, el presente estudio se realizó en superficies inertes (guacales) y en canales de animales sacrificados y no en animales vivos, por lo cual se consideró que no hay ningún conflicto. Adicionalmente, a que el muestreo se realizó en una planta de beneficio autorizada por el Invima, que, por lo tanto, utiliza animales aptos para el beneficio y métodos de insensibilización y beneficio aprobados por el Ministerio de Salud y Protección Social y el Invima. No obstante, lo anterior, se solicitó aprobación del Comité de Ética de la Universidad CES, la cual se obtuvo (Anexo G).

7 RESULTADOS

7.1 Descripción de las características de la granja de procedencia, transporte, la planta de beneficio y de la población a estudio.

A continuación, se relacionan los resultados relacionados con las generalidades de la granja de procedencia, el transporte y de la planta de beneficio.

7.1.1 Características de granja de procedencia, transporte y población de estudio para la etapa de recepción.

De las aves muestreadas en la etapa de recepción (370), la mayor proporción provenían de granjas ubicadas en el departamento de Cundinamarca, del municipio de Nilo, manejaron camas reutilizadas durante el proceso de engorde y se caracterizaron como hembras. Las características de la población se muestran en la Tabla 6. En lo relacionado a las variables tipo de ambiente, tipo de alimentación, tipo de cama y tipo de agua, no hubo variación en las granjas de procedencia de las aves seleccionadas, por lo que el 100% tenían ambiente no controlado, el mecanismo de alimentación era manual, usaban cascarilla de arroz como cama y el tipo de agua era tratada.

Tabla 6. Descripción de las variables cualitativas de granja de procedencia, transporte, la planta de beneficio y de la población a estudio, Bogotá, 2018.

Variable	Categorías	N	Porcentaje
Departamento	Cundinamarca	340	91,9
	Tolima	30	8,1
Municipio	Nilo	100	27,0
	Fusagasugá	90	24,3
	Arbeláez	30	8,1
	Espinal	30	8,1
	Granada	30	8,1
	La Mesa	30	8,1
	Pandi	30	8,1
	Sasaima	30	8,1
Granja de procedencia*	E	100	27,0
	A	30	8,1
	B	30	8,1
	C	30	8,1
	D	30	8,1
	F	30	8,1
	G	30	8,1
	H	30	8,1
	I	30	8,1
	J	30	8,1
Uso de cama reutilizada	Si	250	67,6
	No	120	32,4
Sexo	Hembras	250	67,6
	Machos	120	32,4
	Más de 2,5 horas	150	40,5

*Los nombres de las granjas de procedencia fueron cegados por aspectos éticos.

Fuente: elaboración propia

La mediana de la altura de las granjas de procedencia de las aves fue de 1200 metros sobre el nivel del mar (msnm) y al menos el 75% de ellas procedieron de granjas con altura igual o inferior a 1250 msnm, en cuanto al número de pollos por metro cuadrado, se encontró que el 75% de las granjas tienen un máximo de 13 animales por metro cuadrado. En lo que respecta al porcentaje de mortalidad, el 75% de las granjas de procedencia presentó una mortalidad de hasta el 3,3%. Las variables cuantitativas para la etapa de recepción no tuvieron una distribución normal como se evidencia en la Tabla 7.

Tabla 7. Descripción de las variables cuantitativas de granja de procedencia, transporte, la planta de beneficio y de la población a estudio, Bogotá, 2018.

Variab les	Q1	Mediana	Q3	Mínimo	Máximo	p*
Altura sobre el nivel del mar (msnm)	336	1200	1250	323	1800	0,000
No. de pollos del galpón	3600	7000	16000	1200	20000	0,000
Densidad del galpón (No. de Aves por m ²)	12,7	12,7	13,8	9,4	16,2	0,000
Porcentaje de mortalidad en el galpón (%)	2,2	3,0	3,3	1,9	4,2	0,000
Edad en días	37	39	41	35	41	0,000
Peso de las aves en el viaje (gramos)	1950	1968	2060	1910	2370	0,000
Tiempo de transporte (horas)	2,5	3,2	4,0	2,2	6,1	0,000
Tiempo de espera en la planta de beneficio (horas)	0,7	1,9	2,7	0,0	5,2	0,000

*Prueba de normalidad Kolmogorov – Smirnov ($p < 0,05$, variables con distribución no normal)

Fuente: elaboración propia

7.1.2 Características de la planta de beneficio y de la población de estudio para la etapa de salida de chiller.

En la etapa de la salida de chiller, la distribución por día de la semana y por la cantidad de horas transcurridas desde inicio de proceso, al momento del inicio del beneficio del viaje mostró proporciones similares, lo que se observa en la tabla 8.

Tabla 8. Descripción de las variables cualitativas de la planta de beneficio y de la población a estudio, Bogotá, 2018.

Variable	Categoría	N	Porcentaje
Día de la semana	Primeros 3 días de la semana	70	50,7
	Últimos 3 días de la semana	68	49,3
Cantidad de horas desde inicio de proceso del día al inicio del beneficio del viaje	Últimas 5 horas de proceso	69	50,0
	Primeras 5 horas de proceso	69	50,0

Fuente: elaboración propia

El rango de aves sacrificadas en los días de muestreo se encontró entre 40046 a 53552 aves, con una mediana de 44137,5. El cloro residual en el agua de chiller se mantuvo en un rango entre 1 y 1,5. Y la temperatura máxima de los pollos a la salida del chiller fue de

3,7°C. Todas las variables cuantitativas para la etapa de salida del chiller no tuvieron una distribución normal como se evidencia en la Tabla 9, debido a que el valor de p de la prueba de normalidad Kolmogorov – Smirnov es menor a 0,05.

Tabla 9. Descripción de las variables cuantitativas de la planta de beneficio y de la población a estudio, Bogotá, 2018.

Variable	Q1	Mediana	Q2	Mínimo	Máximo	p*
Tiempo de ayuno (horas)	8,5	10,7	10,8	7,7	11,5	0,000
Cantidad de aves beneficiadas el día del muestreo	43011,5	44137,5	53552,0	40046	53552	0,000
Cantidad de viajes por día	18,0	18,5	30,0	18	30	0,000
Cloro residual en agua del chiller (ppm)	1,0	1,0	1,1	1,0	1,5	0,000
Temperatura promedio del pollo a la salida de chiller (°C)	2,2	2,4	2,7	1,8	3,7	0,000

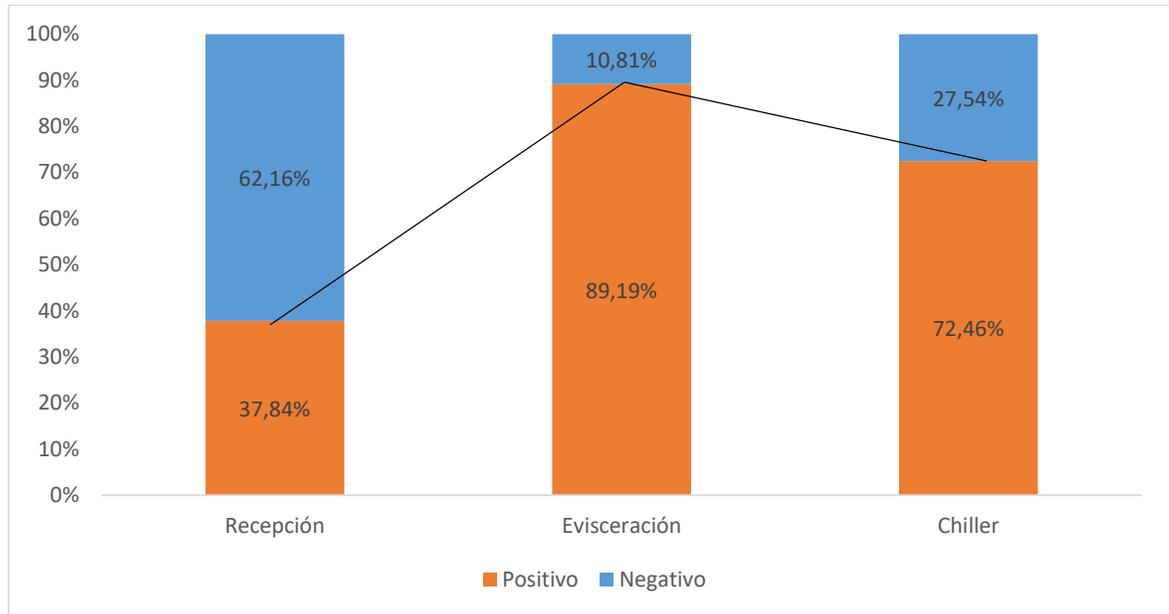
*Prueba de normalidad Kolmogorov - Smirnov

Fuente: elaboración propia

7.2 Presencia de *Salmonella* spp en las etapas del proceso de recepción, evisceración y salida de chiller, a través de la técnica PCR tiempo real.

En la figura 9 se observa que la presencia de *Salmonella* spp aumenta en un 51,35% en la etapa de evisceración frente a la etapa de recepción y en la etapa de chiller se presenta una disminución de 16,73% frente a la de evisceración. La prevalencia de infección en la etapa de recepción fue de 37,8%, en la etapa de evisceración fue de 89,1% y en chiller fue de 72,5%.

Figura 9. Presencia de *Salmonella* spp en las etapas de proceso en las cuales se realizó muestreo. Bogotá, 2018.



Fuente: elaboración propia

Se presentó una mayor prevalencia en de *Salmonella* spp en la etapa de recepción para las aves provenientes del municipio de Nilo y de la granja G, de acuerdo a lo observado en la tabla 10.

Tabla 10. Prevalencia de *Salmonella* spp por Municipio de procedencia de las aves, Bogotá, 2018.

Municipio	% positivos	Granja de procedencia	% positivos
Nilo	60,00%	G	66,7%
Fusagasugá	44,44%	I	66,7%
Arbeláez	33,33%	E	60,0%
Granada	33,33%	A	33,3%
La Mesa	33,33%	C	33,3%
Pandi	33,33%	F	33,3%
Espinal	0,00%	J	33,3%
Sasaima	0,00%	B	0,0%
		D	0,0%
		H	0,0%

Fuente: elaboración propia

7.3 Asociación ajustada entre presencia-ausencia de *Salmonella* spp y las diversas variables de la granja de procedencia, transporte, la planta de beneficio y de la población a estudio.

A continuación, se presentan los resultados del análisis bivariado para las etapas de recepción y salida del Chiller.

7.3.1 Características asociadas a Salmonella en la etapa de recepción

En el análisis bivariado se logró determinar, que las variables como provenir del municipio de Nilo, de las granjas G, I E y el uso de cama reutilizada, se asocian con una mayor prevalencia (RP>1). La asociación de todas las variables incluidas en el estudio para esta etapa del proceso se observa en la tabla 11.

Tabla 11. Análisis bivariado de las variables cualitativas Vs resultado de PCR en tiempo real en recepción. Bogotá, 2018

Variable	Categoría	Positivos	Negativos	RP	IC 95%	p*
Departamento	Cundinamarca	140	200	-	-	-
	Tolima	0	30	-	-	-
Municipio	Nilo	60	40	1,8	(1,1-3,1)	0,010
	Fusagasugá	40	50	1,33	(0,8-2,3)	0,285
	Arbeláez	10	20	1	(0,5-2,0)	1
	Granada	10	20	1	(0,5-2,0)	1
	La Mesa	10	20	1	(0,5-2,0)	1
	Pandi	10	20	1	(0,5-2,0)	1
	Espinal	0	30	-	-	0,000
	Sasaima	0	30	-	-	0,000
Granja de procedencia	G	20	10	2	(1,1-3,5)	0,010
	I	20	10	2	(1,1-3,5)	0,010
	E	60	40	1,8	(1,1-3,1)	0,010
	A	10	20	1	(0,5-2,0)	1
	C	10	20	1	(0,5-2,0)	1
	F	10	20	1	(0,5-2,0)	1
	J	10	20	1	(0,5-2,0)	1
	B	0	30	-	-	-
	D	0	30	-	-	-
	H	0	30	-	-	-
Uso de cama reutilizada	Si	110	140	1,76	(1,253-2,47)	0,000
	No	30	90			
Sexo	Machos	50	70	1,16	(0,88-1,51)	0,293
	Hembras	90	160			

*Chi-cuadrado de Pearson

Fuente: elaboración propia

La asociación de la positividad a *Salmonella spp* y las variables cuantitativas mostró que existen mayores medianas en densidad, edad en días y tiempo de transporte en las aves con resultado positivo a *Salmonella*, en contraste con la mortalidad en galpón, que mostró una diferencia de 0,32% en favor de los negativos. Para estas variables existe una diferencia significativa entre las aves con resultados negativos y las aves con resultados positivos a *Salmonella spp*. Los análisis descritos se observan en la tabla 12.

Tabla 12. Análisis bivariado de las variables cuantitativas Vs resultado de PCR en tiempo real en recepción. Bogotá, 2018.

Variable	Categoría	Q1	Mediana	Q3	Mínimo	Máximo	p*
Altura sobre el nivel del mar (msnm)	Positivos	336	1112	1250	336	1800	0,610
	Negativos	336	1203	1250	323	1800	
Densidad del galpón (No. de Aves por m ²)	Positivos	12,7	13,1	15,5	12,0	16,2	0,000
	Negativos	10,0	12,0	13,8	9,4	16,2	
Porcentaje de mortalidad en el galpón (%)	Positivos	2,2	2,7	3,0	1,9	4,2	0,000
	Negativos	2,7	3,0	3,5	1,9	4,2	
Edad en días	Positivos	38	40	41	35	41	0,000
	Negativos	36	38	40	35	41	
Peso de las aves en el viaje (gramos)	Positivos	1950	1984	2060	1910	2370	0,879
	Negativos	1950	1968	2140	1910	2370	
Tiempo de transporte (horas)	Positivos	2,5	3,5	4,9	2,2	6,1	0,03
	Negativos	2,5	2,8	3,8	2,2	6,1	
Tiempo de espera en la planta de beneficio (horas)	Positivos	1,4	2,0	3,6	0,0	5,2	0,062
	Negativos	0,5	1,9	2,7	0,0	5,2	

*Prueba de U de Mann Whitney

Fuente: elaboración propia

7.3.2 Características asociadas a *Salmonella* en la etapa salida del chiller

Como resultado del análisis bivariado se determinó que las variables día de la semana y cantidad de horas desde el inicio del proceso se asocian con una mayor prevalencia de *Salmonella spp* a la salida del chiller (RP>1), resultados que se observan en la tabla 13.

Tabla 13. Análisis bivariado de las variables cualitativas Vs resultado de PCR en tiempo real en salida del chiller. Bogotá, 2018.

Variable	Categoría	Positivos	Negativos	RP	IC 95%	p*
Día de la semana	Últimos 3 días de la semana	63	5	1,75	(1,4-2,2)	0,000
	Primeros 3 días de la semana	37	33			
Cantidad de horas desde inicio de proceso del día al inicio del beneficio del viaje	Últimas 5 horas de proceso	60	9	1,5	(1,2-1,9)	0,000
	Primeras 5 horas de proceso	40	29			

*Chi-cuadrado de Pearson

Fuente: elaboración propia

Las variables cuantitativas permitieron observar una mediana menor en las aves con resultado positivo a *Salmonella* para la variable cantidad de aves beneficiadas en el día del muestreo, en contraste con el cloro residual en agua del chiller, cuya mediana es igual para los dos grupos. Para estas variables existe una diferencia significativa entre las aves con resultados negativos y las aves con resultados positivos a *Salmonella* spp. Estos resultados de presentan en la tabla 14.

Tabla 14. Análisis bivariado de las variables cuantitativas Vs resultado de PCR en tiempo real en salida del chiller. Bogotá, 2018.

Variable	Categoría	Q1	Mediana	Q3	Mínimo	Máximo	p*
Tiempo de ayuno (horas)	Positivos	10,3	10,7	11	7,7	11,5	0,064
	Negativos	7,9	8,5	10,8	7,7	11,5	
Cantidad de aves beneficiadas el día del muestreo	Positivos	40046	44000	44275	40046	53552	0,000
	Negativos	44000	53552	53552	40046	53552	
Cloro residual en agua del chiller (ppm)	Positivos	1	1	1,75	1	1,5	0,005
	Negativos	1	1	1	1	1,5	
Temperatura promedio del pollo a la salida de chiller (°C)	Positivos	2,2	2,5	2,7	1,8	3,7	0,053
	Negativos	2,3	2,4	2,6	1,8	3,7	

*Prueba de U de Mann Whitney.

Fuente: elaboración propia

7.3.3 Características asociadas con Salmonella ajustadas en la etapa de recepción

Según los resultados obtenidos en el análisis multivariado, se encontró que el uso de cama reutilizada y la densidad de aves en el galpón son las variables que mejor explicaron la presencia de *Salmonella* spp en la etapa de recepción, en la población estudiada, resultados que se presentan en la tabla 15.

Tabla 15. Regresión logística para presencia de Salmonella spp en la etapa de recepción, según las diversas variables de la granja de procedencia, transporte y de la población a estudio, Bogotá, 2018.

Variable	β	E.T	Wald	p	Exp (β)	IC 95% Exp (β)
Uso de cama reutilizada	0,6	0,3	4,0	0,045	2	1,0 - 3,9
Densidad del galpón	0,6	0,2	13,3	0,000	1,9	1,3-2,6
Porcentaje de mortalidad en el galpón	-0,6	0,3	3,5	0,060	0,6	0,3- 1,0
Edad en días	0,1	0,1	1,9	0,163	1,1	0,9-1,3
Tiempo de transporte	0,4	0,2	2,9	0,086	1,4	0,9-2,2
Tiempo de espera en la planta	-0,2	0,1	2,3	0,128	0,8	0,6-1,1
Constante	-13,1	3,3	15,4	0,000	0,0	

Fuente: elaboración propia

Como se explicó en el plan de análisis, se calcularon las RP ajustadas a partir de los OR calculados en la Regresión Logística presentada anteriormente y como resultado, se mantienen las variables uso de cama reutilizada y densidad de aves en el galpón, como las que mejor explican la presencia de *Salmonella* spp en la etapa de recepción. Los estimadores ajustados se presentan en la tabla 16.

Tabla 16. Regresión logística para presencia de *Salmonella* spp en la etapa de recepción, según las diversas variables de la granja de procedencia, transporte y de la población a estudio con RP ajustado, Bogotá, 2018.

Variable	β	p	RP crudo	IC 95% RP	RP ajustado	IC 95% RP ajustado
Uso de cama reutilizada	0,684	0,045	1,76	(1,253-2,47)	1,6	(1,01-2,25)
Densidad del galpón	0,629	0,000			1,9*	(1,3-2,6)
Porcentaje de mortalidad en el galpón	-0,563	0,060			0,6*	(0,3-1)
Edad en días	0,113	0,163			1,1*	(0,9-1,3)
Tiempo de transporte	0,369	0,086			1,4*	(0,9-2,2)
Tiempo de espera en la planta	-0,188	0,128			0,8*	(0,6-1,1)
Constante	-13,120	0,000				

*Representa $\text{Exp}(\beta)$. Fuente: elaboración propia

El modelo explicativo final propuesto para la etapa de recepción tuvo un R^2 de cox y Snell de 0,204, el cual presentó un 67,6% de clasificación correcta de los casos.

7.3.4 Regresión logística para presencia de *Salmonella* spp en la etapa de salida del chiller, Bogotá, 2018.

Las variables que mejor explican la presencia de *Salmonella* spp en la población de estudio, en la etapa de salida de chiller, de acuerdo a los resultados presentados en la Tabla No. 17, son día de la semana y cantidad de horas desde el inicio del proceso.

Tabla 17. Regresión logística para presencia de *Salmonella* spp en la etapa de salida de chiller, según las variables del proceso de beneficio y de la población a estudio, Bogotá, 2018

Variable	β	E.T.	Wald	p	Exp (β)	IC 95% Exp (β)
Día de la semana	2,8	0,6	24,6	0,000	16,6	5,5-50,5
Temperatura a la salida de chiller	0,7	0,5	2,0	0,157	2,1	0,8-5,6
Cantidad de horas desde el inicio de proceso	1,9	0,5	14,4	0,000	6,8	2,5-18,5
Constante	-2,6	1,3	4,1	0,043	0,1	

Fuente: elaboración propia

Al calcular las RP ajustadas a partir de los OR calculados en la Regresión Logística, continúan las variables día de la semana y cantidad de horas desde el inicio del proceso, como las que mejor explican la presencia de *Salmonella* spp en la etapa de salida del chiller. Los estimadores ajustados para esta etapa se presentan en la tabla 18.

Tabla 18. Regresión logística para presencia de *Salmonella* spp en la etapa de salida de chiller, según las variables del proceso de beneficio y de la población a estudio, Bogotá, 2018, con RP ajustado.

Variable	B	p	RP crudo	IC 95% RP	RP ajustado	IC 95% RP ajustado
Día de la semana	2,812	0,000	1,75	(1,39-2,21)	1,8	(1,6-1,9)
Temperatura a la salida de chiller	0,719	0,157			2,1*	(0,8-5,6)
Cantidad de horas desde el inicio de proceso	1,924	0,000	1,5	(1,20-1,87)	1,6	(1,34-1,7)
Constante	-2,647	0,043				

*Representa Exp(β)

Fuente: elaboración propia

El modelo explicativo final propuesto para la etapa salida de chiller tuvo un R^2 de cox y Snell de 0,310, con un 84,8% de clasificación correcta de los casos.

8 DISCUSIÓN

El porcentaje de granjas de procedencia con uso de cama reutilizada en este estudio fue el 67,6% a diferencia del estudio Donado, Gardner et al (39) que fue menos del 50%. En Colombia no existe reglamentación que prohíba o restrinja el uso de cama reutilizada en granjas de aves por lo cual estos hallazgos sugieren que esta práctica es comúnmente manejada y los principales motivos que la soportan son: se disminuye el impacto en el ambiente, insuficiencia del material y a disminución de costos en la producción (40).

La mediana en la edad de las aves en el presente estudio fue de 39 días, dato similar al estudio de Donado, Gardner et al (39) el cual fue de 40 días, que es la edad que en promedio se llevan las aves para el sacrificio. En un estudio realizado por la Autoridad de Seguridad Alimentaria de Europa (EFSA por sus siglas en inglés), no se encontró asociación entre la edad y la presencia de *Salmonella* spp en las aves, al igual que los resultados de este estudio. De acuerdo a lo descrito por Aguilera, M., (62) actualmente los ciclos de producción de pollos de engorde en Colombia van de 35 días, cuando son pollos para asaderos, a 42 días si se trata de pollos para despresar.

La alta densidad de aves en la granja de procedencia está asociada a un aumento en la prevalencia de *Salmonella* spp en la etapa de recepción, al igual que lo descrito por Donado – Godoy et al (39), donde se reportó que el aumento de una (1) unidad en el número de pollos por metro cuadrado estaba asociado a un incremento del 20% en el riesgo predicho para la granja de tener un estatus positivo, lo cual puede ser debido a un aumento en el estrés de las aves (63). La densidad de las granjas de procedencia de las aves que fueron objeto de muestreo en este estudio osciló entre 9,4 y 16,2 pollos por metro cuadrado con una mediana de 12,7 pollos.

Los resultados del presente estudio presentan una alta prevalencia de *Salmonella* spp en las granjas de procedencia, dado que al menos un ave fue positiva en el 70% de las granjas de las cuales se muestrearon aves. Este hallazgo es similar a lo identificado por Arsenault – Letellier et al (51) que reportó un 84,2 %; sin embargo, prevalencias más bajas han sido reportadas en otros estudios tales como el de Donado, Gardner et al (39) en el que fue de 40%, en Ecuador Vinuesa_Ceballos et al (64) un 42% y de un estudio llevado a cabo en Brasil por Giombelli y Abreu (65) que aisló *Salmonella* spp solamente en 5% de las granjas

estudiadas. Es muy importante conocer de manera oficial, la situación nacional de la prevalencia de *Salmonella* spp en las granjas de producción de pollos de engorde con el fin de establezcan medidas encaminadas a disminuirla.

Se encontró asociación entre la presencia de *Salmonella* spp y el uso de cama reutilizada en la granja de procedencia. Aunque este resultado difiere a lo encontrado en el estudio realizado por Muniz-Mesa (66), donde se analizaron las camas reutilizadas durante 7 lotes consecutivos de pollos de engorde y se observó disminución de las muestras positivas a *Salmonella* spp, lo cual se podría explicar porque en ese estudio las camas fueron sometidas a procesos estandarizados de fermentación entre los lotes, lo que afecta la viabilidad de la bacteria, a través de una digestión anaeróbica. Al no estar reglamentado el uso de cama reutilizada en Colombia, no se cuenta con procedimientos claros y estandarizados para su manejo, por lo cual es posible que en muchas ocasiones se realice de manera inadecuada.

La variación en la prevalencia de *Salmonella* a través del proceso de beneficio, coincide con la variación reportada por Rozende-Quintana et al (67), Hyun-Jung, Jung-Whan et al (68) que reportaron un aumento de contaminación en evisceración y posteriormente una disminución a la salida del chiller; en contraste, los hallazgos del estudio realizado por Rivera et al (46), mostraron que el momento del proceso de mayor prevalencia fue el de sangría (punto inmediatamente posterior a la recepción), presentándose una disminución en los siguientes puntos (escaldado, desplumado y corte de cloaca) con un aumento en el evisceración y más adelante una disminución en la salida del chiller. La prevalencia obtenida en las etapas de evisceración (89,19%) y salida del chiller (72,46%) del presente estudio se encuentran por encima de los valores reportados por el Invima en el estudio realizado a nivel nacional en el año 2012 (34% y 29% respectivamente) y en el estudio de Rivera et al (46) (40% y 10%), respectivamente, lo que podría ser debido a la técnica analítica utilizada.

El aumento observado de la presencia de *Salmonella* spp en la etapa de evisceración respecto a recepción, etapa en la cual se encontraron lotes sin presencia de *Salmonella* spp, indica contaminación durante el proceso en las etapas posteriores a recepción, llevando a un porcentaje de canales positivas alta en evisceración, lo cual podría estar

relacionado con contaminación cruzada entre lotes u otras fuentes de contaminación, tal como lo presentan Arsenault – Letellier et al (51) y Nógrády-Kardos et al (69).

Estos hallazgos sugieren, que uno de los momentos en que más se presenta contaminación es la evisceración, debida probablemente a condiciones en este proceso que llevan a ruptura del tracto gastrointestinal, contaminación de las canales con la bacteria y contaminación cruzada a otras canales por utensilios y manos de los operarios que transfieren la *Salmonella* spp a otras canales que no están contaminadas.

La disminución de la prevalencia en la salida del chiller, sugiere una ligera eficiencia en la eliminación de la bacteria a través de la adición y medición constante del cloro residual, además del control de su multiplicación mediante la disminución de la temperatura del agua y de las canales.

En este punto, es necesario destacar que la prueba por la cual se está determinando la presencia de *Salmonella* spp (PCR en tiempo real), detecta la presencia de ADN de la bacteria y no determina su viabilidad. Por lo tanto, aunque la *Salmonella* spp está presente en una alta proporción de canales (72,48%) a la salida del chiller, es probable que una parte de estas bacterias no sean viables, debido al efecto del desinfectante utilizado en chiller (hidróxido de cloro). Se sugiere realizar estudios donde se determine en las muestras con presencia de *Salmonella* spp, su viabilidad mediante pruebas como cultivo microbiológico y serotipificación, cuando se utilice esta técnica analítica.

No se observó diferencia significativa en el tiempo de espera en la planta de beneficio sin embargo se observó mayor prevalencia en los que esperaron más tiempo en la planta similar al estudio de Arsenault – Letellier et al (51). Lo anterior difiere a lo encontrado por Seliwiorstow-Baré et al (70), en un estudio realizado en Bélgica, donde el tiempo de transporte y espera en la planta estaba inversamente asociado con recuentos de *Campylobacter* durante el proceso de beneficio. Esta asociación se atribuye probablemente a un corto tiempo de retiro de alimento en las granjas, el cual es expulsado cuando el tiempo de transporte y de espera es más largo, lo que favorece que disminuya la contaminación durante el proceso de beneficio.

La presencia de *Salmonella* spp en la etapa de salida de chiller fue significativamente más alta en los últimos días de la semana al igual que en el estudio de Arsenault – Letellier

(51) en el cual se obtuvo una diferencia significativa para *Campylobacter*, lo que se puede atribuir a una mayor carga de la bacteria en los equipos de beneficio durante la semana o a la disminución de prácticas higiénicas por parte de los operarios en los últimos días de la semana (51), lo cual podría ser aplicado para *Salmonella* spp.

Un estudio realizado por EFSA en 28 países de Europa (17) encontró que la prevalencia de *Salmonella* spp en las canales de aves aumentaba en las últimas horas de proceso y aunque no se encontró asociación estadísticamente significativa en el total de la población estudiada, al dividir los países entre los que presentaron una prevalencia de *Salmonella* spp menor a la prevalencia media de la Unión Europea y los que presentaron prevalencia mayor, se encontró asociación en estos últimos. Así mismo, se encontró que esta es una de las variables que mejor explicaron la presencia de *Salmonella* spp en el modelo de regresión logística realizado por EFSA. Lo anterior, podría estar relacionado con las condiciones higiénicas a lo largo del proceso de beneficio, donde se presenta acumulación de la bacteria en el medio ambiente de la planta de beneficio (equipos, operarios, utensilios, agua del chiller) proveniente de los lotes de aves sacrificados en las primeras horas de proceso. Adicionalmente, en las últimas horas (10 horas posteriores al inicio del proceso) los controles pueden ser menos estrictos, los operarios presentan cansancio, lo que puede influir en la eficiencia de las prácticas higiénicas.

En el presente estudio los factores que mejor explican la presencia de *Salmonella* spp en recepción fueron densidad de aves en el galpón (RP 1,9 (IC 1,3-2,6)) y uso de cama reutilizada (RP 1,6 (IC 1,01-2,25)). Con respecto a la etapa de salida del chiller las variables que mejor explican la presencia de *Salmonella* spp son día de la semana (RP 1,8 (IC 1,6-1,9)) y cantidad de horas desde el inicio del proceso (RP 1,6 (IC 1,34-1,7)). La densidad de las aves en el galpón fue uno de los factores que mejor explicó la presencia de *Salmonella* en granja, según lo reportado por Donado-Godoy et al (39). La última variable fue reportada en un modelo de regresión logística realizado por EFSA (17), donde a mayor cantidad de horas, aumenta el OR estimado. No se encontraron estudios adicionales en los cuales se haya realizado un análisis de regresión logística similar, por lo cual se consideran de gran importancia los hallazgos del estudio.

El presente estudio contó con limitaciones en lo que respecta a la cantidad de pruebas con las que se contó para realizarlo y adicionalmente, al ser un estudio de corte transversal, no

es posible hacer inferencia a todas las plantas de beneficio. Sin embargo, los hallazgos presentan una aproximación al comportamiento de la *Salmonella* spp en la planta de beneficio y los factores sobre los que se puede intervenir para disminuir la prevalencia en el producto final y así mismos bajar la probabilidad de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos en la población humana.

9 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La mayor proporción de aves muestreadas provenían de granjas ubicadas en el departamento de Cundinamarca, siendo este el segundo departamento con más producción avícola (19,36%), en el municipio de Nilo, utilizaron cama reutilizada durante el proceso de engorde, eran hembras y tuvieron un tiempo de espera en la planta de beneficio menor a 2,5 horas. No se observó variación en las granjas de procedencia de las aves seleccionadas para las variables tipo de ambiente, tipo de alimentación, tipo de cama y tipo de agua. La distribución por día de la semana y por la cantidad de horas transcurridas desde inicio de proceso del día al inicio del beneficio del viaje mostró proporciones similares para los dos grupos de estudio.

Se evidenció diferencia entre las prevalencias de *Salmonella* spp en las diferentes etapas del proceso que fueron muestreadas, en la etapa de recepción se obtuvo una prevalencia de 37,84%, en la etapa de evisceración 88,19% y en la etapa de salida de chiller 72,46%, por lo tanto, la mayor prevalencia de *Salmonella* spp observada ocurrió en la etapa de evisceración. El aumento de *Salmonella* spp en la etapa de evisceración frente a la recepción indica una contaminación cruzada, por lo cual se sugiere reforzar los procedimientos de limpieza y de desinfección de manos, equipos y utensilios durante el proceso, monitorear constantemente la operación de evisceración, con el fin de verificar la efectividad, evitando la ruptura del tracto gastrointestinal; así mismo verificar visualmente las canales antes del lavado final y de la caída al chiller, con el fin de detectar las que puedan estar contaminadas y realizar acciones para disminuirla, a través de la implementación del punto denominado como “tolerancia cero” establecido en la reglamentación colombiana. En lo que respecta a la prevalencia en la salida del chiller, se deben continuar realizando y evaluando las intervenciones necesarias para disminuir la carga bacteriana en el producto final, lo cual podría lograrse través de la disminución de la contaminación cruzada en los pasos anteriores.

Adicionalmente, es importante que el Gobierno Nacional determine el estándar de desempeño para *Salmonella* spp, tomando como base la información derivada de los muestreos realizados por el Invima, conforme a lo establecido en la Resolución 2690 de 2015, y de esta forma, las plantas de beneficio tendrán un objetivo que debe ser alcanzado

a través de sus Sistemas HACCP y así mismo llevar a la disminución de estas prevalencias y a la producción y comercialización de un producto inocuo.

En la etapa de recepción se encontró asociación entre la positividad a *Salmonella spp* y provenir del municipio del Nilo, de las granjas G, I E y el uso de cama reutilizada. Igualmente, se observó diferencia significativa para la prevalencia de *Salmonella spp* en la etapa de recepción con respecto a densidad en la granja de procedencia, edad en días, tiempo de transporte a la planta de beneficio y porcentaje de mortalidad en el galpón. Teniendo en cuenta que se encontraron granjas de procedencia con ausencia de *Salmonella spp* en la etapa de recepción, se recomienda realizar un monitoreo constante del estado de las granjas frente a la presencia de *Salmonella spp*, lo que permitirá tomar medidas de control en las granjas que presenten mayor positividad y considerar la prevalencia de cada granja con el fin de sacrificar inicialmente las aves correspondientes a las granjas negativas o con menos prevalencia de *Salmonella spp* y así disminuir la contaminación cruzada durante el proceso y obtener un producto final inocuo.

Las variables uso de cama reutilizada y la densidad de aves en el galpón fueron las que mejor explicaron la presencia de *Salmonella spp* en la etapa de recepción, en la población estudiada. En el mismo sentido, las variables que mejor explicaron la presencia de *Salmonella spp* en la etapa de salida de chiller fueron día de la semana y cantidad de horas desde el inicio del proceso.

Se deben realizar más estudios con el fin de establecer el riesgo asociado al uso de cama reutilizada en los galpones con la presencia de *Salmonella spp* en las aves al llegar a la planta de beneficio y establecer las medidas necesarias con el fin de restringir o estandarizar las metodologías utilizadas para disminuir carga bacteriana entre lotes. Así mismo se recomienda tomar medidas en granja para controlar la densidad de los pollos en el galpón lo cual está relacionado con una adecuada programación de la granja y a la capacidad instalada de los galpones.

El día de la semana en que se benefician las aves y la hora de proceso se encuentran asociados con una mayor contaminación de las canales, por lo cual es importante tener una mayor supervisión en las practicas higiénicas de los equipos y de los operarios durante todos los días del proceso, con un especial énfasis en los últimos días de la semana e igualmente en las últimas horas de proceso. Se recomienda dar cumplimiento a lo

establecido en la reglamentación colombiana (Decreto 1500 de 2007 y resoluciones reglamentarias) en lo que respecta a la implementación de los Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES), definiendolos claramente, estableciendo los responsables y realizando las actividades necesarias para su verificación y validación, con énfasis especial a las últimas horas de proceso y últimas horas de la semana.

Pruebas para detección de *Salmonella* spp, como PCR en tiempo real pueden contribuir en los muestreos de rutina, cuando es necesario tomar un gran número de muestras y se requieren los resultados rápidamente, sin embargo, estas metodologías no remplazan las técnicas de aislamiento de microorganismos, serotipificación y determinación de resistencia antimicrobiana, que son muy importantes en estudios epidemiológicos (71). Se recomienda que cuando se utilice PCR en tiempo real en puntos en los cuales existen intervenciones encaminadas a disminuir carga bacteriana, se determine la viabilidad de los microorganismos cuando los resultados sean positivos.

Una recomendación final es evaluar constantemente la efectividad del proceso de limpieza y desinfección de los guacales y de los vehículos transportadores de guacales antes de salir de la planta de beneficio, con el fin de evitar o disminuir la posibilidad de contaminación cruzada de *Salmonella* spp entre granjas.

10 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Pulido M. Industria avícola: el control de la Salmonella. . Revista avicultores, Federación nacional de avicultores de Colombia, FENAVI. 2014:8-13.
2. Ministerio de la Protección Social, UERIA INS. Perfil de riesgo Salmonella spp. (no tifoideas) en pollo entero y en piezas. Bogotá D.C; 2011. p. 15-111.
3. OMS | Salmonella (no tifoidea). WHO. 2014.
4. Jaimes J, Gomez A, Alvarez D, Soler D, Romero J, Villamil L. Las enfermedades infecciosas y su importancia en el sector avícola. Revista de Medicina Veterinaria. 2010:49-61.
5. OMS | Inocuidad de los alimentos. WHO. 2016.
6. Nyachuba DG. Foodborne illness: is it on the rise? Nutr Rev. 2010;68(5):257-69.
7. Inocuidad de los alimentos. Nota descriptiva No. 399. 2015.
8. Suárez MM, J. Presencia de Salmonella serovariedad Enteritidis productos de origen avícola y su repercusión en salud pública. IATREIA. 2000:237-45.
9. OMS. Salmonella (no tifoidea). Nota descriptiva N°139. 2013.
10. Donado PC, V. Counts, Serovars, and Antimicrobial Resistance Phenotypes of. Journal of Food Protection,. 2014;77(2):227-35.
11. Cabrera-Díaz E, Barbosa-Cardenas CM, Perez-Montaña JA, Gonzalez-Aguilar D, Pacheco-Gallardo C, Barba J. Occurrence, Serotype Diversity, and Antimicrobial Resistance of Salmonella in Ground Beef at Retail Stores in Jalisco State, Mexico. Journal of Food Protection. 2013;76(12):2004-10.
12. 10 datos sobre la inocuidad de los alimentos. Disponible en: http://www.who.int/features/factfiles/food_safety/facts/es/index7.html.
13. Invima. Plantas de Beneficio Animal 2018. Disponible en: <https://www.invima.gov.co/plantas-de-beneficio-animal.html#establecimientos-autorizados>.
14. DRAFT FSIS Compliance Guideline For Controlling Salmonella and Campylobacter in Raw Poultry. 2015.
15. Decreto 1500 de 2007, (2007).
16. FAO. Risk Assessments of Salmonella in Eggs and Broiler Chickens - 2 2002 Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/005/Y4392E/Y4392E00.HTM>.
17. Authority EFS. Analysis of the baseline survey on the prevalence of Campylobacter in broiler batches and of Campylobacter and Salmonella on broiler carcasses, in the EU, 2008 - Part B: Analysis of factors associated with Salmonella contamination of broiler carcasses. EFSA Journal. 2011;9(2).
18. Wideman N, Bailey M, Bilgili SF, Thippareddi H, Wang L, Bratcher C, et al. Evaluating best practices for Campylobacter and Salmonella reduction in poultry processing plants. Poult Sci. 2016;95(2):306-15.
19. Ministerio de Salud y Protección Social. Plan Decenal de Salud Pública 2018. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/PlanDecenal/Paginas/home2013.aspx>.
20. PNUD. Objetivos de Desarrollo Sostenible: @undp; 2018. Disponible en: <http://www.co.undp.org/content/colombia/es/home/sustainable-development-goals.html>.
21. Dinero. ¿Por qué la industria avícola colombiana está volando alto? 2017, Disponible en: <http://www.dinero.com/edicion-impres/negocios/articulo/como-va-la-industria-avicola-en-colombia/242959>.

22. FENAVI. Consumo Per Cápita 2018. Disponible en: http://www.fenavi.org/index.php?option=com_content&view=article&id=2160&Itemid=556#magictabs_gvmwn_1.
23. Rodríguez Vasquez MA, Piñeros Gordillo JA. Identificación de Salmonella Gallinarum y Salmonella Pullorum en pollo de engorde de la línea Ross 308. Instname: Universidad de La Salle. 2010.
24. Koneman EW, Allen S. Koneman. Diagnóstico Microbiológico/ Microbiological diagnosis: Texto y Atlas en color. 6a Edición ed2008. 242-9 p.
25. N S. Microbiología Veterinaria. 1ra ed: @Scribd; 2007.
26. Adelantado C AE. La Salmonella, Actualidad desde siempre: Real escuela de avicultura, Laboratorio Calier.
27. Manual de la OIE sobre animales terrestres 2008 2008 Disponible en: www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health.../tahm/2.09.08_SALMONELLOSIS.pdf
28. Agasan A, Kornblum J, Williams G, Pratt CC, Fleckenstein P, Wong M, et al. Profile of Salmonella enterica subsp. enterica (Subspecies I) Serotype 4,5,12:i:- Strains Causing Food-Borne Infections in New York City. J Clin Microbiol. 40:2002. p. 1924-9.
29. Grimont PW, Francois. Antigenic formulae of the Salmonella serovars, 2007, 9th Edition. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella. Paris: Pasteur Institute - Buscar con Google 2007 [WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella. Paris: Pasteur Institute.]. Disponible en: https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf
30. Flores R. EPIZOOTIOLOGÍA DE LA SALMONELLOSIS EN BOVINOS, PORCINOS Y AVES). Disponible en: www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol3/CVv3c05.pdf
31. ICA ICA. Boletines Epidemiológicos Mensuales 2018. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Epidemiologia-veterinaria/Bol/Epi/Mensual.aspx>.
32. Protocolo de Vigilancia en Salud Pública Enfermedades Transmitidas por Alimentos. 2016 [Volumen 1: [Instituto Nacional de Salud]. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Enfermedades%20Trans.%20por%20alimentos.pdf>.
33. Guía Veta-OPS - ASSAI 2015 [Programa de Salud Pública Veterinaria]. Disponible en: <https://www.assa.gov.ar/assa/userfiles/file/guia%20veta.pdf>.
34. Fonav FENAVI-. Propuesta programa de monitoreo de Salmonella en granjas avícolas colombianas basado en autocontrol 2017. Disponible en: <http://www.fenavi.org/images/stories/contenidos/tecnico/Propuesta Programa Monitoreo de Salmonella.pdf>.
35. OIE. Manual de la OIE sobre animales terrestres 2008. Púlorosis y tífosis aviar - OIE 2011 [Capítulo 2.3.11]. Disponible en: www.oie.int/fileadmin/Home/esp/.../chapitre_fowl_typhoid_pullorum_disease.pdf
36. DANE. El Pollo de engorde (Gallus domesticus), fuente proteica de excelente calidad en la alimentación y nutrición humana 2015 Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuaria/sipsa/Bol_Insumos_jun_2015.pdf.
37. Heyndrickx M, Vandekerchove D, Herman L, Rollier I, Grijspeerd K, de Zutter L. Routes for Salmonella Contamination of Poultry Meat: Epidemiological Study from Hatchery to Slaughterhouse. 2002:253.

38. Marin C, Balasch S, Vega S, Lainez M. Sources of Salmonella contamination during broiler production in Eastern Spain. *Preventive Veterinary Medicine*. 2011;98:39-45.
39. Donado-Godoy P, Gardner I, Byrne BA, Leon M, Perez-Gutierrez E, Ovalle MV, et al. Prevalence, risk factors, and antimicrobial resistance profiles of Salmonella from commercial broiler farms in two important poultry-producing regions of Colombia. *Journal Of Food Protection*. 2012;75(5):874-83.
40. Bueno DJ, López N, Rodríguez FI, Procura F. Producción de pollos parrilleros en países sudamericanos y planes sanitarios nacionales para el control de Salmonella en dichos animales / South American broiler production and national control plans for Salmonella in chickens. *Revista agronómica del noroeste argentino*. 2016(2):11.
41. Resolución 242 de 2013, (2013).
42. FAO. SISTEMA DE ANÁLISIS DE PELIGROS Y DE PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL (HACCP) Y DIRECTRICES PARA SU APLICACIÓN [Anexo al CAC/RCP-1 (1969), Rev. 3 (97)]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/005/y1579s/y1579s03.htm>.
43. FAO/WHO. Risk characterization of Salmonella Spp. in eggs and broiler chickens and Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods. Rome; 2001.
44. Buncic S, Sofos J. Interventions to control Salmonella contamination during poultry, cattle and pig slaughter. *Food Research International*. 2012;45(2):641-55.
45. Requisitos sanitarios para el funcionamiento de las plantas de beneficio de aves de corral, despiece y almacenamiento, comercialización, expendio, transporte, importación o exportación de carne y productos cárnicos comestibles, (2013).
46. Rivera-Pérez W, Barquero-Calvo E, Zamora-Sanabria R. Salmonella Contamination Risk Points in Broiler Carcasses during Slaughter Line Processing. 2014.
47. Petracci M, Bianchi M, Cavani C. Pre-slaughter handling and slaughtering factors influencing poultry product quality. *World's Poultry Science Journal*. 2010;66(1):17-26.
48. NTF. Best Management Practices for Turkey Production 2004 Disponible en: http://www.usapeec.org/p_documents/newsandinfo_280404094832.pdf.
49. NCC. Good Manufacturing Practices 1992 [Fresh Broiler Products]. Disponible en: http://www.usapeec.org/p_documents/newsandinfo_160404101434.pdf.
50. Identification of risk factors for Campylobacter contamination levels on broiler carcasses during the slaughter process. 2016;226:26–32.
51. Arsenault J, Letellier ANN, Quessy S, Boulianne M. Prevalence and Risk Factors for Salmonella and Campylobacter spp. Carcass Contamination in Broiler Chickens Slaughtered in Quebec, Canada. *Journal of Food Protection*. 2007;70(8):1820-8.
52. Pedraza JG, Sanandres NP, Varela ZS, Aguirre EH, Camacho JV. Aislamiento microbiológico de Salmonella spp. y herramientas moleculares para su detección. *Salud Uninorte*. 2014;30(1):73-94.
53. Geoffrey M. Cooper REH. *La Célula*. 5ª ed 2014 2014-08-18.
54. Tamay D IC, Velasquillo C. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real 2013; 2. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/invdiss/ir-2013/ir132d.pdf>.
55. Gonzalez J, Pereira N, Soto Z, Hernández E, Villarrea J. Aislamiento microbiológico de Salmonella spp. y herramientas moleculares para su detección. *Salud Uninorte*, Vol 30, Iss 1, Pp 73-94 (2014). 2014(1):73.
56. Dorak MT. Real-time PCR. Series BAM, editor. Oxford: Taylor & Francis Group; 2006.

57. U.S.D.A., FSIS. Salmonella and Campylobacter verification program for raw meat and poultry products. FSIS DIRECTIVE 10,2501. Washington, DC2013.
58. USDA-FSIS. Imported raw poultry products sampled for salmonella and campylobacter analysis. FSIS NOTICE 19-17. Washington D.C.2017.
59. BIO-RAD. iQ-Check[®] Salmonella II PCR Detection Kits | Food Science | Bio-Rad. Disponible en:<http://www.bio-rad.com/es-co/product/iq-check-salmonella-ii-pcr-detection-kits?ID=d23decd6-2349-4e87-9087-3fe30ec6d3be>.
60. Ministerio de la Protección Social MDA, Vivienda y Desarrollo Territorial. Resolución 2115 de 2007. Disponible en:
http://www.minambiente.gov.co/images/GestionIntegraldelRecursoHidrico/pdf/Legislaci%C3%B3n_del_agua/Resoluci%C3%B3n_2115.pdf.
61. Schiaffino A, Rodríguez M, Pasarín MI, Regidor E, Borrell C, Fernández E. ¿Odds ratio o razón de proporciones?: Su utilización en estudios transversales / Odds ratio or prevalence ratio?: Their use in cross-sectional studies. Gaceta Sanitaria. 2003(1):51.
62. Díaz MA. Determinantes del desarrollo en la avicultura en Colombia: nstituciones, organizaciones y tecnología. In: Cartagena Cdeer-S, editor.: Banco de la República; 2014.
63. Alcayaga V. Evaluación de la presencia de *Salmonella* spp. en un plantel comercial de pavos en etapa de crinza y engorda.: Universidad de Chile; 2015.
64. Vinuesa-Burgos C, Cevallos M, Ron-Garrido L, Bertrand S, De Zutter L. Prevalence and Diversity of Salmonella Serotypes in Ecuadorian Broilers at Slaughter Age. PLoS ONE. 2016;11(7):1-12.
65. Giombelli A, Gloria MBA. Prevalence of Salmonella and Campylobacter on Broiler Chickens from Farm to Slaughter and Efficiency of Methods To Remove Visible Fecal Contamination. Journal of Food Protection. 2014;77(11):1851-9.
66. Muniz E, Mesa D, Cuaspa R, Souza AM, Santin E. Presence of Salmonella spp. in reused broiler litter. Presencia de Salmonella spp en cama reutilizada de pollos de engorde. 2014;27(1):12-7.
67. Dias M, Cavicchioli V, Camargo A, Lanna F, Pinto P, Nero L, et al. Molecular tracking of Salmonella spp. in chicken meat chain: from slaughterhouse reception to end cuts. Journal of Food Science and Technology. 2016;53(2):1084-91.
68. Hyun-Jung P, Jung-Whan C, Jong-Soo L, Kun-Ho S, Young-Jo K, Eun-Jeong H, et al. Prevalence Analysis and Molecular Characterization of Salmonella at Different Processing Steps in Broiler Slaughter Plants in South Korea. Journal of Food Science. 2015;80(12):M2822-M6.
69. Nógrády N, Kardos G, Bistyák A, Turcsányi I, Mészáros J, Galántai Z, et al. Prevalence and characterization of Salmonella infantis isolates originating from different points of the broiler chicken–human food chain in Hungary. International Journal of Food Microbiology. 2008;127:162-7.
70. Seliwiorstow T, Baré J, Berkvens D, Van Damme I, Uyttendaele M, De Zutter L. Identification of risk factors for Campylobacter contamination levels on broiler carcasses during the slaughter process. International Journal of Food Microbiology. 2016;226:26-32.
71. Cortez ALL, Carvalho ACFB, Ikuno AA, Bürger KP, Vidal-Martins AMC. Identification of Salmonella spp. isolates from chicken abattoirs by multiplex-PCR. Research in Veterinary Science. 2006;81:340-4.

11 ANEXOS

Anexo A. Lista de variables.

Nombre	Clasificación por relación al estudio	Definición	Clasificación por la naturaleza	Unidad de medida en el estudio y codificación
Presencia de <i>Salmonella spp</i> en aves en la recepción	Variable Dependiente	Porcentaje de muestras positivas a <i>Salmonella spp</i> en aves.	Cuantitativa, continua	Ausencia – Presencia 1: Presencia 2: Ausencia
Departamento.	Variable independiente	Departamento donde se encuentra ubicada la granja de la cual provienen las aves	Cualitativa	Departamento 1: Cundinamarca 2: Tolima
Municipio	Variable independiente	Municipio donde se encuentra ubicada la granja de la cual provienen las aves	Cualitativa	Municipio 1. Arbelaez 2. Fusagasugá 3. Granada. 4. La Mesa 5. Nilo. 6. Pandi 7. Sasaima 8. Espinal

Nombre	Clasificación por relación al estudio	Definición	Clasificación por la naturaleza	Unidad de medida en el estudio y codificación
Granja procedencia	Variable independiente	Granja específica de donde provienen las aves.	Cualitativa	1. Acapulco 2. Cucuate. 3. El Encanto 4. La Cabaña 5. Meseta 6. Mirador. 7. Monicata 8. Rancho Pitalito 9. San Fernando 10. Santa Rosa 1
Altura de granja de procedencia	Variable independiente	Altura sobre el nivel del mar en la cual está ubicada la granja de procedencia de las aves muestreadas.	Cuantitativa discreta	Metros sobre el nivel del mar.
Densidad del galpón	Variable independiente	No. de aves por metro cuadrado durante la etapa de engorde en el galpón	Cuantitativa continua	(No. de aves por metro cuadrado)

Nombre	Clasificación por relación al estudio	Definición	Clasificación por la naturaleza	Unidad de medida en el estudio y codificación
Uso de cama reutilizada	Variable independiente	Se reutiliza la cama para varios lotes de aves	Cualitativa dicotómica	1: Si 2:No
Porcentaje de mortalidad en el galpón	Variable independiente	Porcentaje de mortalidad de aves durante la etapa de engorde en el galpón	Cuantitativa continua	Porcentaje de mortalidad en el galpón
Sexo de las aves	Variable independiente	Sexo de las aves muestreadas	Cualitativa dicotómica	1: Hembras 2: Machos
Edad de las aves	Variable independiente	Edad de las aves que son muestreados 1 día de beneficio	Cuantitativa	Número de días de edad de las aves
Peso promedio de las aves	Variable independiente	Peso promedio de las aves a muestrear	Cuantitativa	Kilogramos por pollo.
Tiempo de transporte	Variable independiente	Tiempo transcurrido desde el cargue de las aves en el vehículo transportador.	Cuantitativa	Número de horas transcurridas desde el cargue de las aves en el vehículo

Nombre	Clasificación por relación al estudio	Definición	Clasificación por la naturaleza	Unidad de medida en el estudio y codificación
		en la granja de procedencia hasta la llegada a la planta de beneficio.		transportador en la granja de procedencia hasta la llegada a la planta de beneficio del viaje muestreado
Tiempo de espera en planta	Variable independiente	Tiempo transcurrido desde llegada a la planta de beneficio al inicio del proceso de beneficio	Cuantitativa	Número de horas transcurridas desde llegada a la planta de beneficio al inicio del proceso de beneficio del viaje muestreado
Presencia de <i>Salmonella</i> spp al final del proceso en la salida de chiller	Variable Dependiente	Porcentaje de muestras positivas a <i>Salmonella</i> spp en producto al final del proceso en la salida del chiller.	Cualitativa	Ausencia – Presencia 1: Presencia 2: Ausencia

Nombre	Clasificación por relación al estudio	Definición	Clasificación por la naturaleza	Unidad de medida en el estudio y codificación
Cantidad aves beneficiadas el día del muestreo	Variable independiente	Número de aves procesados el día de la toma de la muestra	Cuantitativa	Número de aves procesadas.
Tiempo de ayuno	Variable independiente	Tiempo transcurrido desde el retiro de la comida en la granja de procedencia hasta la recepción de las aves en la planta de beneficio	Cuantitativa	Número de horas transcurrido desde el retiro de la comida en la granja de procedencia hasta la recepción de las aves en la planta de beneficio
Cantidad de aves en el viaje	Variable independiente	Número aves en el viaje muestreado	Cuantitativa	Número de aves por viaje muestreado.
Día de muestreo	Variable independiente	Día en que se realizó el muestreo	Cualitativa Ordinal	1. Primer día de muestreo. 2: Segundo día de muestreo 3. Tercer día de muestreo

Nombre	Clasificación por relación al estudio	Definición	Clasificación por la naturaleza	Unidad de medida en el estudio y codificación
				4. Cuarto día de muestreo
Día de la semana	Variable independiente	Día de la semana en el cual se está realizando el muestreo	Cualitativa Ordinal	1: Últimos 3 días de la semana. 2: Primeros 3 días de la semana
Cantidad de horas desde inicio de proceso	Variable independiente	No. de horas de inicio del proceso de beneficio del lote a muestrear desde el inicio del proceso del día	Cualitativa dicotómica.	1: Últimas 5 horas del proceso 2: Primeras 5 horas del proceso.
Temperatura del pollo a la salida del chiller	Variable Independiente	Temperatura del pollo muestreado a la salida del chiller	Cuantitativa Continua	Temperatura en grados centígrados

Nombre	Clasificación por relación al estudio	Definición	Clasificación por la naturaleza	Unidad de medida en el estudio y codificación
Cloro residual en cloro del agua del chiller	Variable Independiente	Cloro residual de agua del chiller en el momento de la toma de las muestras del viaje	Cuantitativa Continua	Cloro residual en ppm

Anexo B. Encuesta médicos veterinarios de las granjas 000

ENCUESTA MV GRANJAS PLANTA DE BENEFICIO

Características generales

Nombre de la granja

Fecha

Nombre Médico Veterinario

Municipio

Departamento

Cundinamarca Meta Tolima

Altura sobre el nivel del mar (metros)

Capacidad instalada de la granja (número de pollos)

Tipo de ambiente

Controlado
 No controlado

Tipo de alimentación

Automática
 Manual

Tipo de agua

Potable
 No potable

Características lote muestreado

Número de galpones en la granja

Fecha de sacrificio

Número de galpón del lote muestreado

Número de pollos en galpón

Densidad (número de pollos por metro cuadrado)

Fecha de encasetamiento

Tipo de cama utilizada

¿Se utilizó cama reutilizada?

No Si

Porcentaje de mortalidad en el galpón

¿Se tuvo diagnóstico de Salmonella spp en el lote muestreado?

No Si

¿Hubo problemas sanitarios en el galpón muestreado?

No Si

Por favor describa brevemente los problemas sanitarios tenidos en el galpón muestreado, incluyendo tratamientos

Anexo C. Lista de chequeo en planta de beneficio.

LISTA DE CHEQUEO			Número de viaje muestreado en el día
Fecha	Hora inicio del sacrificio del día	Día del proceso: <input type="radio"/> Domingo <input type="radio"/> Miércoles <input type="radio"/> Lunes <input type="radio"/> Jueves <input type="radio"/> Martes <input type="radio"/> Viernes	
Número de viajes	No. de granjas total		
Número de viaje seleccionado a muestrear	Número granjas pollo andino		
ASPECTOS RELACIONADOS CON LA PROCEDENCIA DE LOS POLLOS A MUESTREAR			
Nombre de la granja de procedencia	Departamento	Municipio	
Número de pollos en el vije	Peso promedio de los pollos	Edad	Sexo
TIEMPO DE AYUNO Y DE TRANSPORTE			
Hora de levantamiento de comederos	Hora de inicio del cargue en granja	Hora de final del cargue en granja	
Hora de salida de la granja	Hora de inicio del sacrificio del viaje	Hora de llegada a la planta	
CONDICIONES DURANTE EL PROCESO DE BENEFICIO			
Número de aves procesadas por hora el día del muestreo	Número de aves procesadas el día del muestreo		
Número de muestras tomadas en recepción	Número de muestras tomadas en evisceración		
Temperatura de agua de escaldado	Número de muestras tomadas a la salida del chiller		
Concentración de cloro residual en agua de chiller	Temperatura del agua del chiller		
Temperatura promedio de la canal a la salida del chiller	¿Se pudo realizar seguimiento de la canal?		
Comentarios			

Anexo D. Certificado capacitación manejo del Kit de diagnóstico



ASESORÍA Y MANTENIMIENTO LTDA
Nit. 830.034.233-7

Certifica que:

Carol Agudelo Rico

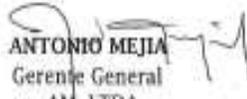
Identificada con C.C. 1.030'596.828

Ha recibido capacitación Teórico- Práctica en:

Manejo del Kit iQ-Check™ Salmonella II de BIO-RAD
con una intensidad de 6 horas.

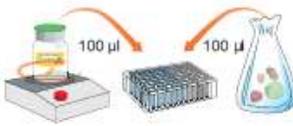
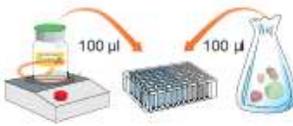
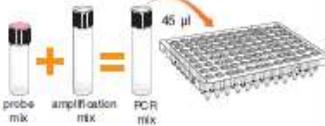
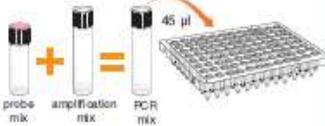
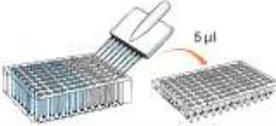
Dado en Bogotá, Diciembre de 12 de 2017.


MÓNICA VILLALBA, MSc, MBA
Especialista de Línea FSD
AM. LTDA


ANTONIO MEJÍA
Gerente General
AM. LTDA



Anexo E. Guía rápida PCR Salmonella.

	<h3>Quick Guide</h3>	<p>357-8123 • iQ-Check™ Salmonella II Easy I Extraction Deepwell Protocol Using the Thermomixer</p> 
	 <p>21 hrs ± 1 hr 37°C BPW</p>	<ul style="list-style-type: none"> Enrich the sample in buffered peptone water (25 g in 225 ml), 21 hrs ± 1 hr at 37 °C
		<ul style="list-style-type: none"> Add 100 µl of the lysis reagent (reagent A) in the deepwell plate <i>Lysis reagent must be constantly stirring in order to keep it in suspension</i> Transfer 100 µl of enriched sample <i>Avoid including large fragments of food debris, and shaking stomach bag before collecting</i> Seal the deepwell plate with the pre-pierced sealing film
	 <p>10-15 min 1,300 rpm 95-100°C</p>	<ul style="list-style-type: none"> Incubate at 95-100°C for 10-15 min at 1,300 rpm in a plate agitator-incubator Cool the deepwell plate
		<ul style="list-style-type: none"> Prepare the PCR mix Distribute 45 µl/well in the PCR microplate
		<ul style="list-style-type: none"> Add 5 µl of controls Transfer 5 µl of sample supernatants Do not vortex before collecting the sample <i>Check there are no bubbles</i> Seal the microplate
		<ul style="list-style-type: none"> Start software Create the plate setup Start the amplification by clicking on "Run"

Please read the kit instruction manual and instrument user guide for complete and detailed instructions.



Anexo F. Guía rápida PCR Salmonella.



Quick Guide

iQ-Check™ Salmonella II

PCR Mix Calculation Guide

To find the correct volumes to use when preparing the PCR mix, add the total number of samples and controls to be analyzed, and find the corresponding volumes of reagent B and reagent C in the table.

Total number of samples & controls	Probes - Reagent B (µl)	Amplification Mix Reagent C (µl)	Total number of samples & controls	Probes - Reagent B (µl)	Amplification Mix Reagent C (µl)
1	5	40	49	265	2100
2	11	86	50	270	2200
3	16	130	51	275	2200
4	22	173	52	281	2200
5	27	216	53	286	2300
6	32	259	54	292	2300
7	38	302	55	297	2400
8	43	346	56	302	2400
9	49	389	57	308	2500
10	54	432	58	313	2500
11	59	475	59	319	2500
12	65	518	60	324	2600
13	70	562	61	329	2600
14	76	605	62	335	2700
15	81	648	63	340	2700
16	86	691	64	346	2800
17	92	734	65	351	2800
18	97	778	66	356	2900
19	103	821	67	362	2900
20	108	864	68	367	2900
21	113	907	69	373	3000
22	119	950	70	378	3000
23	124	994	71	383	3100
24	130	1000	72	389	3100
25	135	1100	73	394	3200
26	140	1100	74	400	3200
27	146	1200	75	405	3200
28	151	1200	76	410	3300
29	157	1300	77	416	3300
30	162	1300	78	421	3400
31	167	1300	79	427	3400
32	173	1400	80	432	3500
33	178	1400	81	437	3500
34	184	1500	82	443	3500
35	189	1500	83	448	3600
36	194	1600	84	454	3600
37	200	1600	85	459	3700
38	205	1600	86	464	3700
39	211	1700	87	470	3800
40	216	1700	88	475	3800
41	221	1800	89	481	3800
42	227	1800	90	486	3900
43	232	1900	91	491	3900
44	238	1900	92	497	4000
45	243	1900	93	502	4000
46	248	2000	94	508	4100
47	254	2000	95	513	4100
48	259	2100	96	518	4100

Bio-Rad, S.N.C. au capital de 50 000 000 Euros, Localité-Gabart, 449 900 719 RCS Nanterre - N° Intracomunitaire FR 50 449 900 712 - Siret 449 900 712 00019



Bio-Rad
Laboratories, Inc.

Life Science
Group

Web site www.bio-rad.com USA 800 451 3440 Australia 61 02 9614 2800 Austria 43 63 1 877 89 01 Belgium 09 385 55 11 Brazil 55 21 3337 54 00
Canada 1 800 369 0070 China 86 21 6325 2255 Czech Republic 420 241 480 530 Denmark 45 52 31 00 Finland 09 8534 22 00 France 33 1 47 96 92 58
Germany 49 69 93 93 89 Greece 30 210 777 4288 Hong Kong 852 2763 3300 Hungary 36 1 405 8800 India 1 800 385 1264
Israel 97 52 917 4127 Italy 39 02 219 9811 Japan 03 5811 8270 Korea 82 2 3470 4 930 Latin America 305 834 50 80 Mexico 52 555 483 7970
The Netherlands 31 3185 40 665 New Zealand 64 9 415 2250 Norway 47 33 38 41 30 Poland 48 22 301 98 99 Portugal 351 21 402 7700
Russia 49 21 210 1700 South Africa 27 11 462 3538 Spain 34 91 560 52 00 Sweden 46 8 555 12700
Switzerland 41 05 61 77 95 55 Taiwan 886 2 2578 7 000 Thailand 66 2 651 2551 United Kingdom 44 20 8239 2000 Vietnam 84 823 8757

© Bio-Rad, PFC51768, Rev C, 07/2011

Anexo G. Acuerdo de confidencialidad y aprobación Animed y Planta de beneficio.



Bogotá D.C., 19 de febrero de 2018.

Doctor:

Gerente de Estrategia

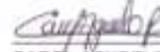
Asunto: Acuerdo de Confidencialidad

Respetado doctor:

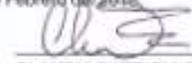
Carol Agudelo, identificada con cédula de ciudadanía No. 1.030.596.828 y **Claudia Patricia Forero**, identificada con cedula de ciudadanía 51.870.238, estamos interesadas en el desarrollo del acuerdo de confidencialidad y nos comprometemos a:

Primero: Garantizar la confidencialidad de la investigación que se viene adelantando sobre los Factores asociados a la prevalencia de *Salmonella agona* en una planta de beneficio de aves mediante la técnica de PCR en tiempo real en Bogotá, Colombia". **Segundo:** A no divulgar ni proporcionar a otras personas o empresas, de manera verbal o escrita, directa o indirectamente, información alguna que perjudique o perjudicará los intereses de la empresa [redacted]. **Tercero:** No se revelará ninguna información sobre el nombre de la Empresa o las granjas. **Cuarto:** Certificamos que la información suministrada será utilizada con fines académicos, como requisito para optar por el título de Magister en Epidemiología en la Universidad El Rosario. **Quinto:** La obligación y compromiso de confidencialidad perdurará mientras la información conserve las características por la que se consideró confidencial. **Quinto:** El presente Acuerdo entrará en vigor en el momento de la aceptación de Polo Andino, expresada mediante la firma de aceptación en este documento.

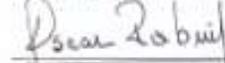
El presente acuerdo, se firma en prueba de esta conformidad, por la parte que en ella intervinieron, en Bogotá a los 19 días del mes de Febrero del 2018.



CAROL AGUDELO RICO
CC. 1030596828
Bacterióloga y Laboratorista Clínica.



CLAUDIA PATRICIA FORERO
CC. 51870238
Médico Veterinario



OSCAR JAVIER ROBIN
Director Científico
Laboratorio Animed

Aceptación:


[redacted]

Calle 63 No. 19A-35
PBX: +57 1 606 0404
fax: +57 1 240 3046
E-mail: labanimed@laboratorioanimed.com
Bogotá - Colombia

Laboratorio Registrado ante el ICA



Anexo H. Comunicación comité de ética.



Medellín, 21 de marzo de 2018

Estudiantes
CAROL AGUDELO RICO
CLAUDIA PATRICIA FORERO
Maestría en Epidemiología
Bogotá

carolagudelor@gmail.com
clafo1@gmail.com

Asunto: Comunicación del Comité Operativo de Investigaciones Código: Acta187Proy011

Proyecto: Factores asociados a la prevalencia de Salmonella spp en una planta de beneficio de aves mediante la técnica de PCR en tiempo real en Bogotá, Colombia

Respetadas estudiantes:

En el Comité Operativo de Investigaciones de la Facultad de Medicina de nuestra Universidad se aprobó, como consta en el Acta No. 187 del 13 de marzo de 2018, su proyecto de investigación "FACTORES ASOCIADOS A LA PREVALENCIA DE SALMONELLA SPP EN UNA PLANTA DE BENEFICIO DE AVES MEDIANTE LA TÉCNICA DE PCR EN TIEMPO REAL EN BOGOTÁ, COLOMBIA".

De igual manera, el Comité reviso y aprobó dicho proyecto desde el punto de vista ético y este aval expedito se registrará en el Comité de Ética correspondiente de la Dirección de Investigación e Innovación de la Universidad CES.

Cordial saludo,

Mónica M. Massaro C. MD. MSc.
Jefe División Investigación e Innovación
Facultad de Medicina

MÓNICA M. MASSARO C, MD. MSc.
Jefe División Investigación e Innovación
Facultad de Medicina

Copia:

Dr. Carlos Trillos (carlos.trillos@urosario.edu.co) y Dra. Yolanda Torres (ytorres@ces.edu.co), Coord. Posgrados Epidemiología Convenio CES – Univ. Rosario
Dr. Hernán García, Jefe División de Salud Pública (hgarcia@ces.edu.co)