

U N I V E R S I D A D D E C O N C E P C I O N
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
MAGÍSTER EN CIENCIAS VETERINARIAS



**DETECCIÓN DE *Salmonella spp.* EN CRIANZAS ARTESANALES DE
GALLINAS AUTÓCTONAS CHILENAS MEDIANTE TÉCNICAS
MICROBIOLÓGICAS Y MOLECULARES (PCR)**



TESIS PRESENTADA A LA ESCUELA DE
GRADUADOS DE LA UNIVERSIDAD DE
CONCEPCIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO
DE MAGÍSTER EN CIENCIAS VETERINARIAS
CON MENCIÓN EN HIGIENE Y TECNOLOGÍA
DE ALIMENTOS

ALEJANDRA ANDREA LATORRE SOTO

CHILLAN-CHILE
2003

IX. RESUMEN

Se realizó un estudio cuyos principales objetivos fueron detectar la presencia de *Salmonella spp.* al interior del sistema de crianza artesanal de gallinas autóctonas chilenas de la Provincia de Ñuble, mediante técnicas microbiológicas y moleculares (PCR) y realizar una descripción de las características de manejo al interior del sistema de crianza artesanal de aves. Para ello se realizó un muestreo dirigido en zonas rurales de la provincia de Ñuble. En todos los lugares estudiados se efectuaba venta de los huevos de la crianza.

El muestreo fue llevado a cabo considerando recoger a lo menos 29 muestras de tómulas cloacales, medio ambiente y huevos, en dos estaciones (Invierno y Primavera) lo cual corresponde al tamaño muestral mínimo para una población infinita con una prevalencia de *Salmonella* de un 10%. Durante los meses de Invierno (Junio-Julio de 2003) se recolectaron 52 huevos, 51 tómulas cloacales y 33 muestras ambientales (n=136). Durante los meses de Primavera (Octubre-Noviembre de 2003) se recolectaron 37 huevos, 29 muestras ambientales y 45 tómulas cloacales (n=111). El total de muestras sometidas a estudio fue de 247. El aislamiento microbiológico se llevó a cabo según el procedimiento de FDA/AOAC/BAM. La detección de *Salmonella spp.* mediante PCR se realizó de acuerdo al protocolo para detección de *Salmonella* en heces (Chiu and Ou, 1996). Para la caracterización de las condiciones de manejo se realizó una encuesta a los propietarios de los predios visitados.

De las 247 muestras recolectadas para la detección de *Salmonella spp.* mediante el método de cultivo tradicional se obtuvo aislamiento positivo en 15 (6.09%), de las cuales 3 corresponden a aislados de muestras de huevos, 3 a muestras obtenidas directamente desde la cloaca mediante tómulas de arrastre y 9 a aislados provenientes de diferentes muestras ambientales.

En cuanto al número de muestras positivas según su tipo (huevos, tómulas de cloacas y ambientales), pudo detectarse diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$) entre los distintos grupos, existiendo una mayor frecuencia de aislamientos desde muestras ambientales, en comparación con las muestras de huevos y tómulas cloacales. No pudo determinarse un aumento estadísticamente significativo ($p > 0.01$) en el número de muestras positivas en relación con alguna de las estaciones en estudio (Invierno y Primavera). Fue posible observar además que el 54% de la totalidad de los huevos además estaba contaminado con otros microorganismos, tales como *E. coli* (41.6%), *E. coli* y levaduras (8.3%), *Pseudomona spp.* (27%), *Klebsiella spp.* (6.25%), *Citrobacter spp.* (2.08%), *Enterobacter spp.* (4.1%), *Proteus* (4.1%).

Mediante PCR pudo detectarse la presencia del Gen *invA* (positivas) en 16 de ellas (6.47%), lo que le da una Sensibilidad a PCR de 93.33% y una especificidad del 99,14% para el total de muestras analizadas. El Valor Predictivo Positivo (VPP) para detectar *Salmonella spp.* a nivel de campo alcanzó un 87,5%, mientras que el valor Predictivo Negativo (VPN) es del 99.57%. El valor *Kappa* fue de 0.897, lo cual indica un elevado nivel de concordancia entre ambas pruebas.

Los datos obtenidos a través de la encuesta, indican que existen deficiencias importantes en lo que respecta a la condiciones de manejo del sistema artesanal de aves, especialmente a nivel sanitario.

Palabras Clave: *Salmonella, Crianza Artesanal de Aves.*



X. SUMMARY

A survey was carried out, which main aim was to detect *Salmonella spp.* in backyard flocks of Chilean hens of Ñuble Province by microbiological and molecular techniques (PCR) and to describe the management of the productive system. Samples were taken on backyard flocks in rural areas of Ñuble Province (10 farms). Eggs were sold in all of those places.

The sampling was done collecting at least 29 samples of cloacal swabs, environment and eggs, in two seasons (winter and spring), corresponding to the minimum sample size for an infinite population with prevalence of *Salmonella* of 10%.

During the winter season (June-July 2002) 52 eggs were collected as well as 51 cloacal swabs and 33 environmental samples (n=136). In the spring season (October-November 2002), 37 eggs were collected together with 29 environmental samples and 45 cloacal swabs (n=111). The isolation *Salmonella* procedure was made according to FDA/AOAC/BAM (conventional culture). The *Salmonella* detection by PCR was made according to the guidelines for detection of *Salmonella* in faeces (Chiu and Ou, 1996). For the characterization of management condition, an inquiry was carried out to the farms' owners.

By conventional culture, 15 (6.09%) of the samples were positive to *Salmonella*, which 3 of them corresponding to eggs samples, 3 to cloacal swabs and 9 to environmental samples. Regarding to the positive samples, according to their type (eggs, cloacal swabs and environment), statistically differences were found ($p < 0.01$), with higher frequency of isolation from environmental samples, compared to eggs and cloacal swabs.

No statistically significant seasonal variation was found ($p > 0.01$).

Additionally, 54% of the eggs were contaminated with other microorganisms, such *E. coli* (41.6%), *E. coli* and Yeasts (8.3%), *Pseudomonas spp.* (27%), *Klebsiella spp.* (6.25%), *Citrobacter spp.* (2.08%), *Enterobacter* (4.1%), *Proteus* (4.1%).

By PCR, sixteen (6.47%) of the samples were positive, conferring to PCR a Sensitivity Value of 93.33% and a Specificity Value of 99.14%. The Positive Predictive Value (PPV) for detection of *Salmonella* at field level was 87.5% and the Negative Predictive Value (NPV) was 99.57%. The *Kappa* value was 0.897, showing high agreement level between both assays.

The data obtained by the inquiry demonstrate the presence of significant defects relative to the sanitary management on the backyard flocks of the Ñuble Province.

Key Words: *Salmonella*, *Backyard Flocks*