

PROPUESTA DE MONITOREO DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA POR SALMONELLA ENTERITIDIS EN HUEVOS FRESCOS

Castillo, Gustavo^{}; Zutara, M. Silvina ; Giunta, Sandra A .; Rios, Patricia⁽¹⁾; Mernes de Pizarro M. Rosa⁽²⁾.*

*Universidad Nacional de Jujuy, Facultad de Ingeniería.
Ítalo Palanca Nº 10, San Salvador de Jujuy, CP 4600, Pcia. de Jujuy.
mzutara@yahoo.com, gustavodcastillo@yahoo.com.ar*

*⁽¹⁾ Universidad Nacional de Jujuy, Facultad de Ciencias Agrarias,
Alberdi 47, San Salvador de Jujuy, CP 4600, Pcia. de Jujuy.*

*⁽²⁾ Servicio de Microbiología. Laboratorio Central de Salud Pública, SUNIBROM, Alberdi 219
(4.600) San Salvador de Jujuy, Pcia. de Jujuy.*

RESUMEN

La salmonelosis humana es una de las principales infecciones alimentarias a nivel mundial provocada en la mayoría de los casos por la bacteria "Salmonella *Enteritidis*". El huevo y los ovoproductos, producidos por la industria alimenticia, tienen una íntima relación con la salmonelosis. Los alimentos implicados de forma más frecuente en esta infección son los producidos por huevos crudos (mayonesas). Para las grandes industrias que emplean huevos como materia prima la utilización de ovoproductos se hace inevitable.

Este estudio tiene como objetivo determinar la calidad microbiológica de los huevos frescos que se comercializan para consumo humano directo o su industrialización en San Salvador de Jujuy. La clasificación y calidad del huevo fueron comprobadas macroscópicamente de acuerdo al CAA. El aislamiento de Salmonella spp. se realizó utilizando la metodología FDA/BAM con modificaciones. Se registraron datos de ingreso de huevos de productores regionales de Jujuy y Salta en el Mercado de Concentración y Abasto de San Salvador de Jujuy, teniendo en cuenta la distribución de las bocas de expendio ("boxes") en el predio durante el mes de junio al que le correspondió una media de 6.563 huevos. Se analizaron un total de 48 huevos, cada muestra está constituida por un de pool de 6 huevos.

Los resultados obtenidos mostraron diferencias en la calidad microbiológica en cuanto a carga microbiana total. Sin embargo no se aisló Salmonella de ninguna de las muestras analizadas. Por lo tanto las muestras analizadas cumplirían con los criterios de calidad microbiológica adoptadas tanto por el código alimentario Argentino como por las normas internacionales para huevos de consumo humano.

Conocer el estado de situación de riesgo que prevalece en la cadena de producción y comercialización de los huevos frescos brindará información actualizada, la cual servirá de apoyo a programas de control microbiológico a empresas avícolas e instituciones de control.

Palabras Claves: huevos, Salmonella, aislamiento de bacterias, calidad microbiológica.

1. INTRODUCCIÓN

El gran aumento en la demanda productiva y la gran competencia para mantenerse dentro del mercado avícola, obliga a las empresas productoras de huevos a cumplir con altos estándares productivos tanto en calidad como en cantidad. Dichos estándares se deben alcanzar cumpliendo todos los reglamentos sanitarios, los cuales deben ser fiscalizados por entidades estatales para asegurar un producto sano para el consumidor y así evitar enfermedades del tipo alimentarias en la población [1]. Es muy difícil tener un control sanitario estricto de todos los alimentos de origen animal y sus derivados que son comercializados en ferias o mercados locales con el consiguiente riesgo para la salud de las personas por su dudosa calidad microbiológica [2].

La producción mundial de huevos asciende a 65 millones de t (2008), lo que implica un importante crecimiento comparado con el año 2000 donde se produjeron 51,7 millones de t. Se observa un fuerte liderazgo de China, a la cual le siguen EEUU, India, Japón, México, Rusia y Brasil. Con respecto a Argentina, ésta se encuentra en el puesto 23 [3,4].

A nivel nacional, el sector avícola se perfila con perspectivas favorables, tanto para la producción de carne aviar como de huevos. El crecimiento ininterrumpido desde el año 2003 y la estrategia delineada para los próximos años permiten vislumbrar una actividad dinámica y en constante expansión, proveedora de alimentos tanto en el mercado local como en el internacional [4].

La producción de huevos se realiza en granjas de ponedoras, en las que se cumplen las etapas de cría, recria y alimentación de las gallinas en producción y la recolección de huevos. Dicha producción posee básicamente dos finalidades: una de ellas es el consumo directo del huevo (huevos frescos) y la otra es la industrialización del mismo dando como resultado lo que se conoce como ovoproducto [5].

De acuerdo a estadísticas de SENASA y RENAVI, se contaba con 4.066 granjas de producción de carne (engorde de pollos) y unas 1.131 granjas de producción de huevos en el año 2009. Completaban el eslabón primario, las granjas de reproducción (301 establecimientos), las plantas de incubación (80 establecimientos) y las granjas de recria (108 establecimientos).

En lo que respecta a la producción de huevo, el país contaba con 1.131 granjas, Buenos Aires concentraba la mayor cantidad de establecimientos (42%). Le seguían en orden de importancia las provincias de Entre Ríos (23%), Santa Fe (10%) y Córdoba (7%) y la provincia de Jujuy (0.80%)

El huevo puede ser invadido por diversos patógenos bacterianos que pueden afectar la salud humana, particularmente SE, la cual ha experimentado una notable expansión a nivel mundial, produciendo un alarmante aumento de la incidencia y severidad de los casos de enfermedad humana [6]. La contaminación bacteriana de los huevos frescos puede ser por transmisión transovárica, contaminación en la cloaca y contaminación posterior a la puesta, generalmente ambiental [6].

La obtención de información relacionada a las características físicas y la presencia de Salmonella sp. en huevos para consumo humano permitirá caracterizar al huevo y conocer la situación de este patógeno. Actualmente hay escasos datos sobre la prevalencia de Salmonella en huevos en la provincia de Jujuy, y el registro de las incidencias de salmonelosis son aisladas e incompletas, lo que complica la aplicación de estrategias de intervención en puntos críticos de control de la cadena productiva avícola y sus productos alimenticios.

Por lo tanto el principal objetivo de este estudio fue determinar la calidad microbiológica de los huevos frescos que se comercializan, para consumo humano directo o para su industrialización, en el Mercado de Concentración y Abasto de San Salvador de Jujuy.

2. MATERIALES Y METODOS.

2.1 Muestreo de huevos

Se realizó una compra, en forma simultánea, de huevos en los puntos de expendios (BOXES) del Mercado de Concentración y Abasto, sito en Av. Almirante Brown N° 350 en los que se venden huevos de procedencia no industrializada. Los boxes registrados, destinados a la comercialización de huevos frescos, son ocho como lo muestra la Figura 1.

El muestreo se llevó a cabo en la última semana del mes de julio del 2013. Se analizaron 60 huevos de gallina frescos de producción regional de Salta y Jujuy para el consumo humano. Las muestras se tomaron en forma aleatoria de los ocho puestos autorizados a la comercialización de huevos frescos del Mercado de Avasto. El muestreo correspondió a un total de 60 huevos. Las muestras fueron tomadas por un único recolector. Cada muestra analizada está compuesta por 6 huevos.

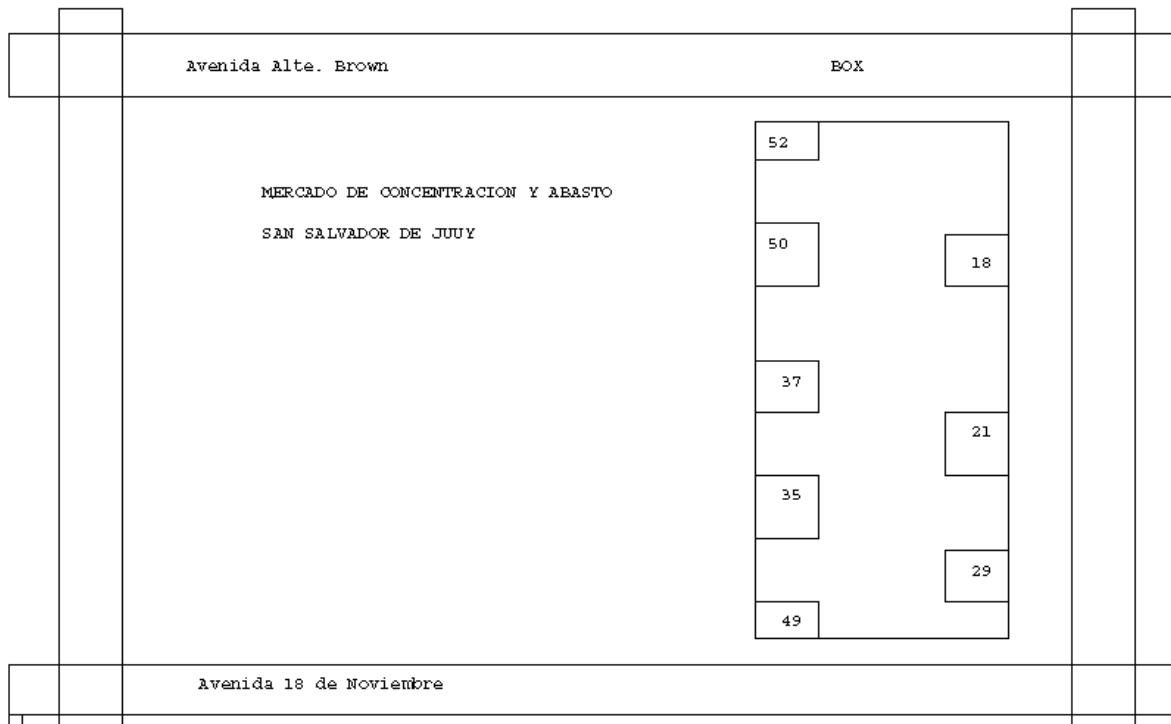


Figura 1 Disposición de los puntos de muestreo

Se tomaron diez muestras, una o dos muestras por puesto autorizado a la comercialización de huevos frescos, dependiendo del número de huevos disponibles al momento del muestreo. Solo dos puestos ofrecían un número superior de huevos que el resto de los puestos, por lo que se hizo necesario tomar dos muestras de cada uno de esos dos puestos.

2.2 Toma de muestra.

Los huevos fueron tomados usando guantes estériles, directamente desde el lugar de venta. Posteriormente fueron depositados en un contenedor térmicamente, debidamente desinfectado para su transporte, permitiendo un traslado a 4°C y así evitando fluctuaciones térmicas. De esta forma se trasladaron al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Jujuy, donde fueron procesados inmediatamente.

Se introdujeron los huevos en bolsas Ziploc® adecuadamente rotuladas indicando el número del huevo y local correspondiente como se muestra en la Figura 2.

Las bolsas aquí utilizadas fueron previamente esterilizadas por exposición a luz ultravioleta, en una cámara de flujo laminar, por 15 minutos.



Figura 2 Toma de muestra.

Después de tomar los resguardos microbiológicos de rutina y previo uso de guantes y mascarillas, se procedió con los ensayos programados.

2.3 Clasificación de acuerdo a limpieza de la cáscara

La clasificación de los huevos de acuerdo a las características de limpieza de la cáscara se llevó a cabo según Ecuación (1). El porcentaje de huevos con superficie sucia se determinó por observación macroscópica y se clasificaron según lo propuesto por el Código Alimentario Argentino [7] y el Decreto N° 4238/68 (1968).

$$\% \text{ huevos con superficie sucia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ huevos con superficie sucia}}{\text{N}^\circ \text{ total de huevos analizados}} \times 100 \quad (1)$$

2.3 Peso del huevo de consumo (PHC).

Los huevos fueron pesados individualmente en condiciones de esterilidad con balanza electrónica, escala 0,1 g (Precisa 3000 D, Zurich, Suiza). De acuerdo a los pesos obtenidos fueron clasificados según lo propuesto por el Código Alimentario Argentino [7] y el Decreto N° 4238/68 (1968), con el siguiente criterio:

- ✓ Grado 1S o "extra grande": ≥ 62 g por unidad y 744 g por docena y 372 gr por media docena.
- ✓ Grado 1 o "grande": entre 54 y 61 g por unidad y 648 g por docena y 324 por media docena.
- ✓ Grado 2 o "mediano": entre 48 y 53 g por unidad y 576 g por docena y 288 por media docena.
- ✓ Grado 3 o "chico": entre 42 y 47 g por unidad y 504 g por docena y 252 por media docena.

2.4 Preparación de la Muestra.

Luego de esta clasificación se adicionó al interior de cada bolsa con sus respectivos huevos 120 ml de agua peptonada; se realizó en grupos de 8 bolsas con una agitación mecánica por un minuto con un reposo de 30 minutos, realizándose 3 veces por muestra con un reposo total de 1 hora, para permitir alternadamente la solubilización del particulado adherido a la superficie de la cáscara y la remoción del mismo mediante las turbulencias de la agitación; como se puede observar en la Figura 3.



Figura 3 Preparación de la Muestra.

Posteriormente, de la solución resultante en cada bolsa se extrajo 25 ml de muestra para la determinación de *Salmonella* sp. y 2 ml para la determinación de la carga microbiana total como se describe a continuación.

2.5 Determinación de la carga microbiana total

Se realizó mediante recuento en placa de bacterias heterótrofas mesófilas aeróbicas (BHMA) en agar nutritivo.

1. Se colocó 1 ml de cada una de las 10 muestras, previamente preparadas, por duplicado en cajas de petri estériles debidamente rotuladas e inmediatamente se vertió 10 a 15 ml de agar nutritivo estéril fundido y enfriado a 44°C como se muestra en la Figura 4.
2. Luego se procedió a homogeneizar la mezcla con suaves movimientos de vaivén y rotación. Una vez homogeneizado el medio con la muestra se dejó enfriar.
3. Se Incubó por 48 horas a 29-31°C.
4. Transcurrido dicho tiempo se procedió al recuento en placa.

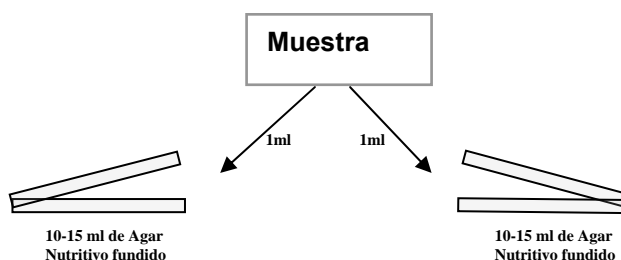


Figura 4 Esquema de la determinación de BHMA

2.6 Aislamiento e identificación de *Salmonella* sp

La metodología empleada fue la de aislamiento FDA/BAM con modificaciones. Actualmente la literatura provee de numerosos métodos analíticos para la medición y detección de la salmonella, en alimentos, procedimiento según International Standard ISO 6579:2002; Bacteriological Analytical Manual – FDA: 2007; toma como referencia ANMAT. En este trabajo el aislamiento e identificación de Salmonella se realizó siguiendo el esquema que muestra la Figura 5.

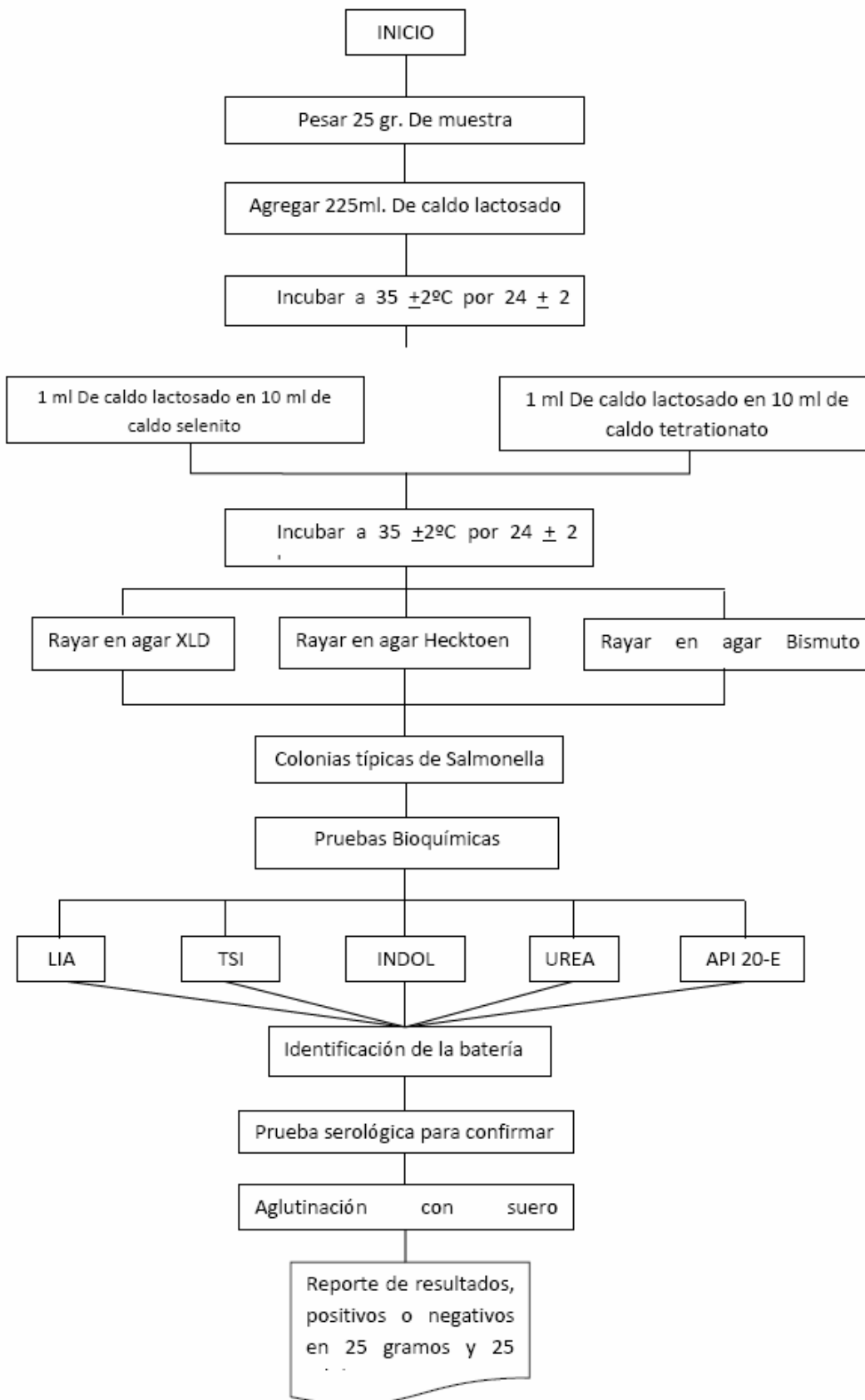


Figura 5 Esquema de aislamiento e identificación de Salmonella spp.

Las colonias características para *Salmonella* sp. en los agares selectivos se describen a continuación.

- ✓ En Agar Bismuto Sulfito las colonias típicas de *Salmonella* sp. son negras con o sin brillo metálico, alrededor de la colonia se forma un halo café o negro.
- ✓ En Agar Hecktoen las colonias típicas de *Salmonella* sp. son azul-verdosas con o sin puntos negros en el centro, las cepas con fuerte producción de H₂S pueden aparecer completamente negras.
- ✓ En Agar XLD las colonias típicas de *Salmonella* sp. son rosadas con o sin puntos negros, las cepas con fuerte producción de H₂S pueden aparecer completamente negras.

2.6.1 Pruebas bioquímicas.

La tabla 1 muestra la interpretación de las pruebas bioquímicas y resume datos de la bibliografía consultada [8].

Tabla 1 Interpretación de las pruebas bioquímicas

Prueba ^a	Cepa de <i>Salmonella</i>									
	S. Typhi		S. Paratyphi A		S. Paratyphi B		S. Paratyphi C		Otras cepas	
	Reacción	% ^b	Reacción	% ^b	Reacción	% ^c	Reacción	% ^c	Reacción	% ^b
Ácido de glucosa en TSI	+	100	+	100	+		+		+	100
Gas de glucosa en TSI	- ^d	0	+	100	+		+		+	92
Ácido de lactosa en TSI	-	2	-	100	-		-		-	1
Ácido de sacarosa en TSI	-	0	-	0	-		-		-	1
Producción de H ₂ S en TSI	+	97	-	10	+		+		+	92
Hidrólisis de la Urea	-	0	-	0	-		-		-	1
Descarboxilación de la Lisina	+	98	-	0	+		+		+	95
Reacción de β-galactosidasa	-	0	-	0	-		-		-	2 ^e
Reacción de Voges-Proskauer.	-	0	-	0	-		-		-	0
Producción de Indol o Kligler	-	0	-	0	-		-		-	1

^a Desde la referencia [9].

^b Estos porcentajes indican que no todos los aislamientos de serotipos de *Salmonella* dan las reacciones marcadas como + ó -. Estos porcentajes pueden variar dentro de un mismo serotipo y entre un serotipo y otro de los causantes de enfermedades alimentarias de diferentes procedencias.

^c Los porcentajes no son conocidos según la literatura disponible.

^d *Salmonella Typhi* no produce gas.

^e *Salmonella enterica* subespecie *arizonae* da una reacción lactosa positiva o negativa, pero es siempre β-galactosidasa positiva. Para el estudio de estas cepas puede ser útil realizar pruebas complementarias.

2.6.1.1 TSI:

Aislamientos típicos de *Salmonella* spp. pueden producir ácido y gas a partir de glucosa en TSI, muestran la parte inclinada alcalina (roja) y el fondo ácido (amarillo), con formación de gas (burbujas) y (en aproximadamente el 90% de los casos) formación de sulfuro de hidrógeno (ennegrecimiento del agar). Cuando se aísla una *Salmonella* lactosa positiva, la parte inclinada del TSI es amarilla. Por eso, la confirmación preliminar de los cultivos de *Salmonella* no debe estar basada solo en los resultados de la prueba del TSI [10].

2.6.1.2. Detección de la β- galactosidasa.

La prueba de la beta-galactosidasa (ONPG, Ortho-nitrophenyl-b-D-galactopyranoside) se usa para confirmar/descartar *Salmonella* sp. Si el resultado es positivo para esta prueba bioquímica la solución se torna amarilla.

3. RESULTADOS.

3.1 Clasificación de acuerdo a limpieza de la cáscara

La Tabla 1 proporciona la clasificación de los huevos analizados con respecto a la limpieza de la cáscara, según lo propuesto por el Código Alimentario Argentino [7] y el Decreto N° 4238/68 (1968).

Tabla 1 *Clasificación de acuerdo a la limpieza de la cáscara.*

BOX	SUPERFICIE SUCIA	Clasificación
M1	Limpio	A
M2	Ligeramente manchado	B
M3	Ligeramente manchado	B
M4	Moderadamente manchado	C
M5	Ligeramente manchado	B
M6	Moderadamente manchado	C
M7	Moderadamente manchado	C
M8	Limpio	A
M9	Moderadamente manchado	C
M10		

3.2 Peso del huevo de consumo (PHC).

De acuerdo a los pesos obtenidos, los huevos fueron clasificados en 1S (extra grande, ≥ 62 g), 1 (grande, 54-61 g), 2 (medianos, 48-53 g) y 3 (pequeños, 42-47 g). Las muestras analizadas corresponden al grado 1S y S, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2 *Clasificación de los huevos según el peso.*

BOX	Peso de 6 huevos [gr.]	Clasificación
M1	371,6	1S
M2	308,8	1
M3	350,0	1
M4	381,2	1S
M5	461,0	1S
M6	361,3	1
M7	407,3	1S
M8	360,9	1
M9	380,4	1S
M10		

3.3 Determinación de la carga microbiana total

La tabla 3 muestra los resultados obtenidos en el recuento en placa de bacterias heterótrofas mesófilas aeróbicas (BHMA) en agar nutritivo de las muestras analizadas. Los resultados están reportados en Unidades Formadoras de Colonias por huevo (UFC/Huevo).

Tabla 3 *Unidades Formadoras de Colonias de BHMA por huevo.*

Muestra	UFC/HUEVO	Duplicado	UFC/HUEVO
M1	$1,8 \times 10^4$	M1	$1,5 \times 10^4$
M2	$8,6 \times 10^5$	M2	$1,3 \times 10^6$
M3	$1,5 \times 10^4$	M3	$2,3 \times 10^4$
M4	$6,6 \times 10^4$	M4	$3,0 \times 10^4$
M5	$1,8 \times 10^4$	M5	$2,8 \times 10^4$
M6	$5,1 \times 10^4$	M6	$4,3 \times 10^4$
M7	$3,1 \times 10^4$	M7	$3,1 \times 10^4$
M8	$1,4 \times 10^4$	M8	$2,0 \times 10^4$
M9	$9,1 \times 10^3$	M9	$1,1 \times 10^4$

3.4 Aislamiento e identificación de Salmonella sp.

Como se puede observar en la Figura 6 ninguna muestra evidenció desarrollo de una colonia típica de Salmonella sp. en ninguno de los agares sembrados (agar XLD, Hecktoen y Bismuto Sulfito). Solo en dos muestras, M8 y M7, de observaron desarrollo de colonias atípicas. La muestra M8 evidenció desarrollo atípico tanto en el agar XLD como en agar Bismuto Sulfito, mientras que la muestra M7 solo lo hizo en el agar XLD. El resto de las muestras no presentó desarrollo microbiano en ninguno de los agares sembrados con la muestra correspondiente. La coloración de Gram de estas colonias reveló que se trataba en todos los casos de bastones Gram negativos. Sin embargo el resultado de las pruebas bioquímicas efectuadas a estas colonias atípicas mostró que no se trataba de Salmonella. Por lo tanto, de ninguna de las 10 muestras analizadas se aisló la bacteria Salmonella sp. Eso significa que el 100% de las muestras analizadas fueron negativas para Salmonella como se observa en la Figura 6 y la Tabla 4.

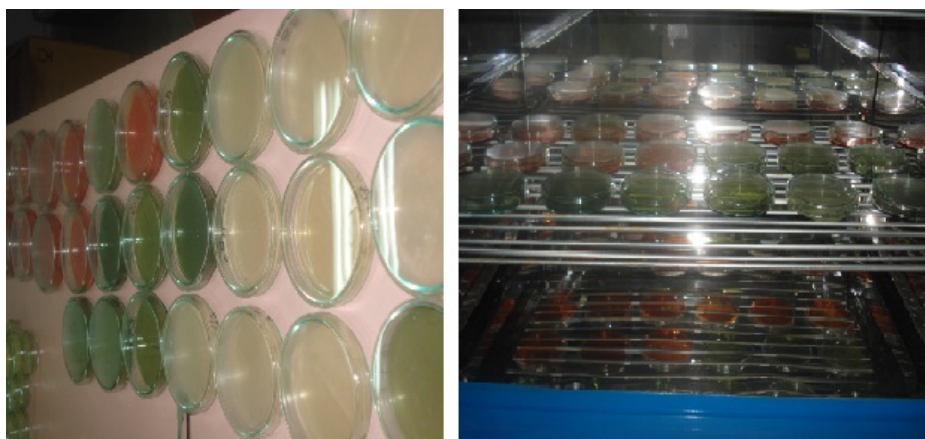


Figura 6 Placas de agar XLD, Hecktoen y Bismuto Sulfito sembradas con las muestras según esquema de trabajo.

Tabla 4 Presencia de Salmonella sp. en las muestras analizadas.

Muestra	Resultado del Análisis de la superficie de los huevos en 25 ml de muestra.
M1	AUSENTE
M2	AUSENTE
M3	AUSENTE
M4	AUSENTE
M5	AUSENTE
M6	AUSENTE
M7	AUSENTE
M8	AUSENTE
M9	AUSENTE
M10	-----

Observación: la muestra 10 no se pudo analizar ya que dicho puesto o BOX no disponía de huevos el día de la recolección; sin embargo se lo incluyó en este trabajo porque estaba considerado en el diseño experimental.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.

De los resultados aquí obtenidos para la carga microbiana total (aerobios totales) y considerando los datos presentados en la Tablas 5 podemos inferir que si bien en algunas muestras el valor de carga microbiana total se acerca a los límites y en algunos casos supera los valores límites establecidos en dichas tablas, debemos recordar que los valores de carga microbiana total aquí obtenidos están reportados en UFC por huevo y no por gramo de huevo, como están reportados

en la Tabla 5. Dicho valor experimental se convertiría en un valor mucho menor al dividirse por el peso del huevo (~60g.). Este valor sería representativo de la carga microbiana que potencialmente podría pasar al huevo al cascarlo sin limpiar la cáscara; si este fuera el caso la posible contaminación sería despreciable frente al valor límite establecido en la Tabla 5.

Tabla 5 Límites establecidos por la USDA (United States Departamento of Agriculture) para huevo líquido, refrigerado o deshidratado.

MICROORGANISMOS	
Conteo de placas aerobias	< 25.000 por gramo
Grupo de Coliformes	< 10 por gramo
Hongos y levaduras	< 10 por gramo
Salmonella sp	Ausentes

Con respecto a la presencia de Salmonella sp.; los valores presentados por las Tablas 5 y 6 revelan que los huevos aquí analizados cumplen los requisitos para su comercialización tanto para la USDA como para el Mercado Común del Sur.

Tabla 6 Reglamentos para Mercosur (Mercado Común del Sur)

ALIMENTOS	MICROORGANISMOS	TOLERANCIA
Huevo integrado crudo	Salmonella sp/25gr.	Negativo
Yema, clara o mezclas pasteurizadas, refrigeradas o congeladas, con azúcar, sal y otros aditivos.	Coliformes Estafilococos coag. Positivo/ml Salmonella sp/ml	< 1 10 Ausentes

El propósito de esta investigación fue determinar si la bacteria Salmonella sp. está presente en huevos frescos que están a la venta en el Mercado de Concentración y Abasto procedentes de productores regionales. Las muestras analizadas fueron representativas de 8 puestos diferentes, tomándose cada uno directamente de los puestos de venta del mercado. El resultado aquí obtenido fue la ausencia de la bacteria del género Salmonella sp. en todas las muestras analizadas, esto muestra que la incidencia de huevos contaminados con Salmonella sp. fue muy baja en huevos frescos procedentes de productores locales en el día que se llevó a cabo el muestreo. Estos datos concuerdan con otros reportes de estudios similares llevados a cabo en huevos frescos. Diversos estudios han demostrado que en general el número de bacterias presentes en los huevos frescos es muy bajo, sin embargo, un almacenamiento prolongado a temperatura ambiente permite la multiplicación de bacterias incrementando la población microbiana en varios ciclos logarítmicos. Desde el punto de vista microbiológico, es importante tener en cuenta que la mayor parte de los huevos recién puestos son estériles, al menos interiormente, sin embargo la cáscara se contamina rápidamente con materias fecales, en los nidos, manipulación, transporte y una serie de peligros añadidos. La calidad interna del huevo puede verse afectada por las condiciones del medio ambiente, tales como temperatura y humedad de almacenamiento, afectando algunas características del huevo. Estos cambios incluyen pérdida de agua y de dióxido de carbono con el subsiguiente aumento de pH en el contenido del huevo [11].

Este es el primer estudio de esta naturaleza realizado en huevos frescos que se comercializan en el Mercado de Concentración y Abasto de la ciudad de San Salvador de Jujuy. Por lo anteriormente expuesto los resultados aquí obtenidos no garantizan que los huevos en otro período de muestreo y con mayor exposición a los factores anteriormente mencionados arrojen resultados como los aquí obtenidos, siendo necesario realizar periódicamente más análisis de este tipo, para poder tener registros y elaborar estadísticas que reflejen la incidencia real de esta bacteria en huevos producidos en determinada región, en este caso San Salvador de Jujuy.

5. REFERENCIAS.

- [1] Leiva, V., A. Valdés, E. Cisneros y O. Pérez. 1996. Determinación de salmonela y enterobacterias totales en huevos frescos de gallina. Rev. Cub. Alimen. Nutr. 10(2): 1-
- [2] Neira, M. 2004. Seguridad alimentaria en huevos y ovoproductos. Instituto de estudios del huevo/inprovo. Madrid. España.
- [3] Anónimo. 2011. Watt Executive Guide 2011. Wyatt Publishing. England. http://www.itpnews.com/files/images/watt2011_ITP.pdf. Acceso Noviembre de 2011.
- [4] Lamelas, K; Mair, G & Beczkowski, G. (2011). Boletín avícola: anuario 2010. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Buenos Aires, Argentina. 61:1-43.
- [5] Garzon, y Izaguirre, a & Zurita, n. 2010. Aspectos productivos, comerciales y económicos de la Cadena Aviar en Argentina. Asociación del comercio, industria, producción y afines de Neuquén (ACIPAN).
- [6] Gast, R. (2003). Paratyphoid infections. In diseases of poultry. Y.m. saif, h.j. barnes, a.m. fadly, j.r. glisson, l.r. mcdougald, d.e. swayne (eds.). Iowa state press. Usa. P. 583-599.
- [7] Codigo Alimentario Argentino. (1994). Actualización acumulada. Tomo I y III. Marzocchi Ediciones. Argentina.
- [8] Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la detección de Salmonella spp. – Método de referencia (ISO 6579:2002, IDT) norma cubana ISO 6579: 2008 (Publicada por la ISO en2002).
- [9] Ewing, W. H. And Ball, M..M. The biochemical reactions of the genus Salmonella .National Center Ford Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA, 1996.
- [10] Montville, T.J. & Mathews, K.R. 2008. Gram-negative foodborne pathogenic bacteria. En: Food Microbiology. An introduction. Ed. American Society for Microbiology. Washington. p. 97-112. 2008.
- [11] Akyurek, H. & Okur, A.A. 2009. Effect of storage time, temperature an hen age on egg quality in free-range layer hens. Journal of Animal and Veterinary Advances. 8:1953-1958. 2009.

Agradecimientos

Los autores de este trabajo desean agradecer a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANCyT) del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la Nación cuyo financiamiento hizo posible la realización de este trabajo.