

Variación de serogrupos de *Salmonella entérica* en huevos provenientes de gallinas ponedoras de uso comercial¹

Naddya Valentine Jordán Romero², Dante Joni Choquehuanca Panclas³

Resumen

Introducción: la salmonelosis es una infección de importancia en la salud pública, representando una intoxicación dentro de la zoonosis de mayor prevalencia en Latinoamérica. **Objetivo:** determinar las variaciones de serogrupos de *Salmonella entérica* en huevos de uso comercial. **Materiales y métodos:** el análisis microbiológico se realizó por medio de cultivos *in vitro* y confirmación bioquímica según el método planteado por Bakery and Goff, las pruebas serológicas por medio de antisueros polivalentes y monovalentes y las pruebas estadísticas se realizaron por medio de Chi-cuadrado. **Resultados:** presencia de *Salmonella entérica* en diferentes capas de huevo, cutícula es un 8,64 %, cáscara un 5,41 %, membrana externa 3,24 % y para la yema se obtuvo 4,32 %, la prueba estadística reporta que no existe diferencias significativas para los cuatro casos, los serogrupos

identificados fueron C1 para cutícula y cáscara C1 y B, en membrana externa C1 y yema C1. **Conclusiones:** esta investigación permitió entender la dispersión de *Salmonella entérica* en las diferentes áreas del huevo (cáscara, membrana exterior, cutícula y yema) y su éxito como patógeno de un amplio rango de hospedadores de los serogrupos. A futuro, el mayor conocimiento de estos serogrupos y sus comportamientos facilitará la implementación de estrategias de bioseguridad, saneamiento y manejo de los alimentos de origen no solo de gallinas ponedoras, sino de toda la variedad de animales que se encuentran portantes o propensos a portar este patógeno severo para la prevención de la enfermedad y disminuir la vulnerabilidad en las personas y otros animales.

Palabras claves: Análisis microbiológico, cultivo, *Salmonella entérica*, serogrupos

1 Artículo original. Estudio no deriva de otro proyecto. Ejecutado entre febrero de 2022 y marzo de 2022 – Perú.

2 Magister en Educación con Mención en Investigación y docencia en Educación superior, Docente Facultad de Ciencias Biológicas - Escuela Profesional de Biología, Universidad Nacional del Altiplano - Puno. <https://orcid.org/0000-0001-8995-0464>

3 Doctoris Scientiae en Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente; Docente Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano - Puno. <https://orcid.org/0000-0001-6116-9940>

Autor para Correspondencia: naddya.jordan@gmail.com

Recibido: 05/05/2022 Aceptado: 10/11/2022

*Los autores declaran que no tienen conflicto de interés

Prevalence of *Salmonella enterica* serogroups in eggs from commercial laying hens

Abstract

Introduction: Salmonellosis is an infection of importance in public health, representing an intoxication within the most prevalent zoonosis in Latin America. **Objective:** to determine the variations of serogroups of *Salmonella enterica* in eggs of commercial use. **Materials and methods:** the microbiological analysis was performed by means of *in vitro* cultures and biochemical confirmation according to the method proposed by Baker and Goff, serological tests by means of antisera polyvalent and monovalent and statistical tests were performed by means of Chi-square. **Results:** presence of *Salmonella enterica* in different egg layers, cuticle is 8.64 %, shell 5.41 %, outer

membrane 3.24 % and for the yolk 4.32 % was obtained, the statistical test reports that there are no significant differences for the four cases, the serogroups identified were C1 for cuticle and shell C1 and B, in outer membrane C1 and yolk C1. **Conclusions:** this research allowed us to understand the dispersion of *Salmonella enterica* in the different areas of the egg (shell, outer membrane, cuticle and yolk) and its success as a pathogen of a wide range of serogroup hosts. In the future, greater knowledge of these serogroups and their behaviors will facilitate the implementation of strategies of biosecurity, sanitation and food handling source not only of laying hens, but of all the variety of animals that are load-bearing or likely to carry this pathogen severe for the prevention of the disease and decrease the vulnerability in people and other animals.

Keywords: Microbiological analysis, culture, *Salmonella enterica*, serogroups

Prevalência de sorogrupos de *Salmonella enterica* em ovos provenientes de galinhas poedeiras de uso comercial

Resumo

Introdução: a salmonelose é uma infecção de importância na saúde pública representando uma intoxicação dentro da zoonose de maior prevalência na América Latina. **Objetivo:** determinar as variações de sorogrupos de *Salmonella enterica* em ovos de uso comercial. **Materiais e métodos:** a análise microbiológica foi realizada por meio de culturas *in vitro* e confirmação bioquímica segundo o método proposto por Baker e Goff, os testes sorológicos por meio de anti-soros polivalentes e monovalentes e os testes estatísticos foram realizados por meio de Qui-quadrado. **Resultados:** presença de *Salmonella enterica* em diferentes camadas de

ovo, cutícula é 8,64 %, casca 5,41 %, membrana externa 3,24 % e para a gema Obteve-se 4,32 %, o teste estatístico relata que não existe diferenças significativas para os quatro casos, os sorogrupos identificados foram C1 para cutícula e casca C1 e B, na membrana externa C1 e gema C1. **Conclusões:** esta pesquisa permitiu entender a dispersão de *Salmonella enterica* nas diferentes áreas do ovo (casca, membrana externa, cutícula e gema) e seu sucesso como patógeno de uma ampla gama de hospedeiros dos sorogrupos. No futuro, o maior conhecimento destes sorogrupos e seus comportamentos facilitará a implementação de estratégias de biossegurança, saneamento e manejo dos alimentos de origem não só de galinhas poedeiras, mas de toda a variedade de animais que se encontram portantes ou propensos a portar este patógeno severo para a prevenção da doença e diminuir a vulnerabilidade nas pessoas e outros animais.

Palavras-Chaves: Análise microbiológica, cultura, *Salmonella enterica*, sorogrupos

Introducción

La salmonelosis es una infección de especial relevancia en salud pública debido al impacto socioeconómico que ocasiona tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados. Es una enfermedad bacteriana frecuente que afecta al tracto digestivo generalmente viviendo en los intestinos de animales y humanos y liberada por medio de las heces en el proceso de excreción de los mismos (Gutiérrez et al., 2000). En este sentido, representa una intoxicación dentro de la zoonosis de mayor prevalencia dentro de los países en el mundo y una de las principales razones de enfermedades gastrointestinales severas en los seres humanos (Mora, 2018). El número estimado de infecciones humanas por *Salmonella* es superior a los 93.800.000 de casos anuales, con 155.000 muertes al año en el mundo, esto esclarecido por El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CCPE, 2019). En América latina, Asia y África, la incidencia reportada de salmonelosis es de 200 a 500 casos por cada 100.000 habitantes al año. Consecuentemente, resulta interesante aclarar, que la transmisión de esta infección de persona a persona es poco frecuente, por lo que se considera que los alimentos son la principal fuente de exposición humana, como por ejemplo los huevos de consumo alimenticio, según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2018).

Salmonella es un género de bacilos gramnegativos que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* (González et al., 2014). Hasta el presente se han identificado más de 2500 serotipos o serovares diferentes en dos tipos de especies, *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*. Siendo una bacteria ubicua y resistente que puede sobrevivir durante varias semanas en un ambiente seco y varios meses en agua (Barreto et al., 2016). Si bien, todos los serotipos pueden causar la enfermedad en el ser humano, unos pocos son específicos de

algunos huéspedes y pueden alojarse solo en una o en unas pocas especies animales, por ejemplo, *Salmonella enterica* serotipo Dublín en vacunos, y *Salmonella enterica* serotipo *Choleraesuis* en aves y porcinos (Alfaro, 2018). Cuando estos serotipos particulares provocan la enfermedad en la persona suelen ser invasivos y pueden ser mortales.

Así mismo, la nomenclatura de *Salmonella* ha sido objeto de sucesivas revisiones a través de los años por los diferentes grupos de investigación, debido a la confusión que creaban los criterios adoptados para su designación. En la actualidad se reconoce que el género *Salmonella* está constituido por una única especie, compuesta de siete taxones, que tienen el nivel de subespecies (subsp), los que pueden dividirse en serovariedades (serotipos) que están descritas en el esquema de Kauffmann-White Le Minor. El nombre para la especie tipo es *Salmonella enterica* sp. nov., nom. rev. Las serovares del taxón I se designan, por ejemplo, *Salmonella* subsp. I ser. Typhimurium. Para los restantes taxones, menos frecuentes en patología humana o animal, se emplea el nombre de la subespecie seguida de la fórmula antigénica, por ejemplo, *Salmonella* subespecie IV 50 b. Este criterio ha sido aceptado como válido por el Comité Internacional de Taxonomía Microbiana y los nombres de las serovares se van incluyendo en las Listas Aprobadas de los Nombres Bacterianos (Eiguet & Caffer, 1988).

Sin embargo, la mayoría de los serotipos se encuentran en una gran diversidad de huéspedes. Generalmente, estos serotipos causan gastroenteritis, que suele ser un trastorno sin complicaciones y no requiere un tratamiento invasivo, aunque puede ser grave en los infantes, longevos y pacientes con sistemas inmunológicos deficientes. A este grupo pertenecen *Salmonella enterica* serotipo *Enteritidis* y *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium, los dos serotipos más

relevantes de esta bacteria transmitido de animales a humanos en el mundo.

Es de relevancia destacar que los serogrupos de *Salmonella entérica* pueden llegar a infectar diferentes alimentos, siendo los huevos uno de los más vulnerables en cuanto a la contaminación por microorganismos de este género y teniendo en consideración la importancia de su distribución y agresividad establecidas en los diferentes niveles de este alimento como la cáscara, la cutícula, membrana externa y yema, zonas más propensas a poseer serogrupos C1 y B de esta bacteria (Meza & Morales, 2020).

Así mismo, la envergadura radica en que los serogrupos C1 y B son considerados como responsables de enfermedades gastrointestinales, que causan inflamación severa, daños de las paredes de la mucosa intestinal; y, además, deja al huésped en estado de portador de este ejemplar ampliando la transmisión entre los manipuladores de alimentos entre ellos los huevos reflejando condiciones sanitarias inseguras en el expendio de alimentos y consumo, lo que representa un riesgo para la salud social (Nayarit et al., 2016). Es por ello que, el presente abordaje tuvo por objetivo determinar las variaciones de serogrupos de *Salmonella enterica* en huevos de uso comercial.

Materiales y métodos

El abordaje investigativo se ampara bajo un enfoque cuantitativo (Ruiz & Estrada, 2021), correspondiente a una tipología descriptiva con la cual se buscó identificar la existencia de *Salmonella enteritis* en huevos de uso comercial; además, el estudio respondió a un diseño experimental de corte transversal, ya que el proceder analítico y de laboratorio se realizó en un intervalo de tiempo determinado y finito (García & Sánchez, 2020). Así mismo, el

trabajo se realizó en la ciudad de Puno, Perú, geopolíticamente esta región se ubica en el departamento y provincia de Puno, a una altitud de 3810 m.s.n.m, dentro de los márgenes de coordenadas 13°00'00'' y 17°17'30'' de latitud sur y los 71°06'57'' y 68°48'46'' de latitud oeste del meridiano de Greenwich; con una extensión territorial de 71.999, 00 Km² (Cayo & Apaza, 2017).

A su vez, la toma de muestra se llevó a cabo en cuatro mercados pertenecientes a la región; y, el procesamiento de las muestras y análisis serológico se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano, que se encuentra ubicada de la ciudad de Puno.

Muestra biológica

Se trabajó con huevos que se expenden en los principales mercados de la ciudad de Puno. El tamaño muestral se obtuvo por medio de un muestreo probabilístico aleatorio para establecimientos poblacionales infinitos, en este tipo de análisis de muestreo, todos los individuos pertenecientes a la población pueden formar parte de la muestra (Zambrana et al., 2020). Consecuentemente, se realizó una corrección a la muestra (Otzen & Manterola, 2017), esta corrección se abordó porque se conoció el tamaño poblacional, este es de 10.100 de los huevos comercializados en la ciudad de Puno; así, la muestra corregida se estableció en 370 huevos distribuidos de la siguiente manera: 125 procedentes del establecimiento comercial I, 100 del establecimiento II, 91 del mercado III y 54 del recinto IV.

Medios de cultivo

Los medios se seleccionaron de tal forma de esclarecer los parámetros a evaluar para el contraste de resultados. En primera

instancia se presentó el cultivo *in vitro*, este buscó consolidar el enriquecimiento por medio de caldo tripticasa de soya (*Tripticasa de soya Broth*) (TSB); y, medio selectivo por medio de agar XILOSA-LISINA-TEGITOL (XLT4). Por su parte, para la identificación bioquímica se utilizaron medios diferenciales, estos son; Agar Triple azúcar hierro (TSI), Agar lisina hierro (LIA), Agar citrato Simmons (CIT) y caldo peptonado (IDOL). Consecuentemente, para la identificación serológica se empleó antisuero polivalente para el análisis de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* y antisuero monovalente para los serogrupos A, B, C1, C2m D y E. También, como complemento se empleó agua destilada y alcohol etílico a 95 % de pureza.

Métodos de análisis microbiológico para la detección de *Salmonella*

Para la detección serológica de *Salmonella enterica* en huevos de uso comercial de la ciudad de Puno, se estableció la metodología fundamentada en Baker y Goff (Gómez et al., 2012). La misma constó de 4 etapas de análisis: 1) enriquecimiento, 2) cultivo *in vitro*, 3) prueba de conformación bioquímica y 4) identificación serológica. Esta estructuración metodológica se puede evidenciar en la tabla 1.

Tabla 1. Abordajes experimentales y normativa internacional de parámetros microbiológicos

Análisis experimental				
Ensayo	Medio de cultivo	Dimensión evaluada	Normativa internacional de regulación de ensayos microbiológicos en alimentos	
Método Baker y Goff	Enriquecimiento	Caldo tripticasa de soya (TSB) y caldo tetrionato	NTE- INEN-1529-15-2013 Resolución ministerial 591-2008-MINSA	
	Cultivo <i>in vitro</i>	Agar XILOSA-LISINA-TERGITOL (XLT4)	ISO 6579: 2002 FDA-BAM manual analítico bacteriológico	
	Prueba de conformación bioquímica	Agar Triple azúcar hierro	* cutícula	RM-615-2003-SA-DM
		Agar lisina hierro Agar citrato Simmons Caldo peptonado para el Idol	* cáscara * membrana externa * Yema	
Identificación serológica	Agua destilada		NTP-201.036	

Fuente: elaboración propia de los autores, 2022.

Procedimiento experimental

Caldo tripticasa de soya (Trypticase de soya Broth)

Cutícula

Una vez recabadas las muestras de los mercados establecidos en Puno se realizó un hisopado en la superficie del huevo intacto (sin pasar por lavado). Se introdujo el hisopo en un frasco con 100 ml de medio *tripticasa soya Broth* (TSB) para proceder a la incubación de los frascos a 37 °C por 24 horas.

Cáscara

En esta etapa se introdujeron los huevos en una bolsa de polietileno estéril. Se cubrió en su totalidad con 100 ml de *Trypticase soya Broth* (TSB), consecuentemente, se lavaron las cáscaras por 2 minutos, se trasvasan a un frasco para incubar a 37 °C por 24 horas.

Membrana externa

Se abrió una grieta en las muestras de forma aséptica y se introdujo el asa de kolle en la superficie interna de la cáscara del huevo. Se introdujo el asa en un frasco con 100 ml de TSB y se incubó por 24 horas a 37 °C.

Yema

Se sumergió los huevos en alcohol etílico a 35% de pureza y se flamearon para eliminar el exceso de alcohol, se fracturó de forma aséptica la cáscara y se trasvasa el contenido de 4 huevos a un frasco estéril, consecuentemente, se extrajo el contenido en un frasco con 100 ml de TSB y se incubó por 24 horas a 37 °C.

Caldo tetratonato

Se retiró de la estufa el material incubado en el procedimiento anterior para las distintas partes de los huevos, acto seguido se tomó

una alícuota de 1 ml y se transfirió al caldo de enriquecimiento tetratonato Muller Kauffman, para luego ser incubado a 43 °C por 24 horas. Consecuentemente, se procedió a la siembra por medio del Cultivo *in vitro*: siembra en medio selectivo: Agar XILOSA-LSINA-TERGITOL (XLT4), incubando por 24 horas a 37 °C (Freije et al., 2019).

Prueba de confirmación bioquímica

Se inoculó en agar TSI y agar LIA con un asa en punta introduciendo el inóculo por el centro del medio hasta tocar el fondo del tubo, se retiró por el mismo trazo y se sembró por estría en la parte inclinada del tubo. Con el mismo inóculo, se sembró en el agar citrato Simmons (CIT) por estría en la parte inclinada del tubo, luego en el tubo del caldo peptonado para la prueba del indol, se agitó ligeramente el asa para luego ser incubada en tubos a 37 °C por 24 horas (Bustamante et al., 2009).

Identificación serológica

Se transfirió una cepa del medio TSI al medio TSA a partir de las cuales se realizaron las pruebas serológicas. En primera instancia se procedió a la identificación con antisuero polivalente, este consistió en la colocación de una gota de agua destilada estéril en un portaobjetos de vidrio limpio, se emulsiona una ufc de la cepa aislada de *Salmonella* a partir del cultivo del medio TSA, se añadió además una gota de antisuero polivalente en el portaobjetos a fin de confirmar la existencia de *Salmonella enterica*. También, se procedió a la identificación con antisuero monovalente, esto consistió en la adición de seis gotas de agua destilada estéril en el portaobjetos, depositando un pequeño inóculo de la cepa de *Salmonella* en ellas, se añadió una gota de antisuero monovalente por cada una de las seis gotas de agua destilada, se movió de forma cuidadosa y se verificó el aglutinamiento con el fin de confirmar los serogrupos A, B, C₁, C₂, D y E.

Para el entendimiento de este abordaje experimental, se expresa el presente diagrama de flujo (figura 1) donde se identifica la

presencia de *Salmonella* según el método Baker y Goff.

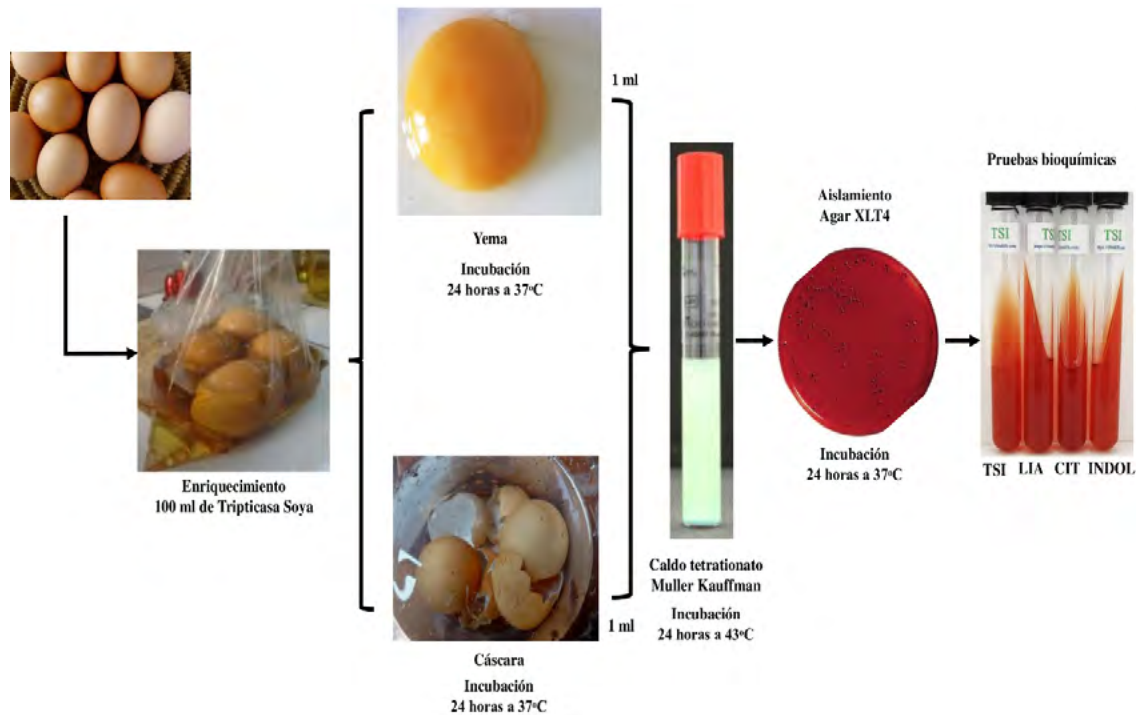


Figura 1. Abordaje metodológico para la identificación de *Salmonella* según el método Baker y Goff.

Fuente: elaboración propia de los autores, 2022.

Análisis estadístico

Para la comparación de los porcentajes de presencia de *Salmonella* de las muestras objetos de estudio se aplicó la prueba de Chi-cuadrado, debido a que los resultados se expresaron en frecuencias (absolutas y porcentuales), esto se logró con un nivel de confianza del 95 % ($\alpha=0.05$), la hipótesis que se buscó validar fue la existencia de diferencias significativas de la presencia de *Salmonella* según los factores de estudio (establecimientos comerciales y partes del individuo). Estos análisis estadísticos descriptivos se realizaron empleando el software o plataforma Jamovi 17.1.2.

Resultados

Presencia de *Salmonella sp.* en cáscaras, cutícula y membrana externa de los huevos comercializados mediante cultivos *in vitro* y confirmación bioquímica

En la tabla 2, se reporta la identificación de especies de *Salmonella* en cáscara, cutícula y membrana externa en el enriquecimiento y siembra en medio selectivo XLT4; también se esboza el número de muestras positivas en el ámbito de las tres estructuras en la ciudad de Puno, consecuentemente, se reporta las características culturales de las

ufc positivas a *Salmonella* en el medio selectivo y las reacciones bioquímicas abordadas para la identificación del género en medios de

cultivo diferenciales para la especie que se diagnosticó como *Salmonella enterica*.

Tabla 2. Identificación de *Salmonella enterica*. Por medio de cultivos *in vitro* y pruebas bioquímicas en cáscaras, cutícula y membrana externa.

Establecimiento comercial	Identificación	Enriquecimiento en THB Siembra en XLT4	Características culturales de <i>Salmonella</i>	Pruebas bioquímicas	Determinación de especie
I	Cutícula	(+) THB y XLT4		TSI	Glucosa + Lactosa - Sacarosa - H2S +++ Gas ++
	Cáscara	8			
	Membrana ext.	4			
II	Cutícula	(+) THB y XLT4	Ufc. Tamaño regular Ufc. Con pigmentos negros	LIA	Descarboxilasa + <i>Salmonella enterica</i>
	Cáscara	12			
	Membrana ext.	8			
III	Cutícula	(+) THB y XLT4	Bordes regulares Elevación	CIT	+
	Cáscara	8			
	Membrana ext.	4			
IV	Cutícula	(+) THB y XLT4		INDOL	-
	Cáscara	4			
	Membrana ext.	4			
		0			

Fuente: elaboración propia de los autores, 2022.

En la Tabla 3, se esclarece la presencia de microorganismos del género *Salmonella* en un 8,64 % con respecto a cutícula, incumbiendo el 6,4 %, 12 %, 8,7 % y 7,4 % a los establecimientos comerciales I, II, III y IV respectivamente. Por su parte, se revela la presencia de la bacteria en

un 5,41 % en la cáscara, atenuando el 3,20 %, 8 %, 4,40 % y 7,4 % a los mercados I, II, III y IV respectivamente. En cuanto a membrana externa del huevo, se visualizó un 3,24 % del ejemplar *Salmonella*, del cual el 3,2 %, 4 %, 4,3 % y 0 % corresponden a I, II, III y IV.

Tabla 3. Presencia de *Salmonella enterica* en cutícula, cáscara y membrana externa de huevo

Cutícula de huevos					
Establecimiento comercial	I	II	III	Central	Total
Muestra	125	100	91	54	370
<i>Salmonella entérica</i>	8	12	8	4	32
Porcentaje	6.4	12	8.7	7.4	8.64
Cáscara de huevos					
Establecimiento comercial	I	II	III	Central	Total
Muestra	125	100	91	54	370
<i>Salmonella entérica</i>	4	8	4	4	20
Porcentaje	3.20	8	4.40	7.41	5.41
Membrana externa					
Establecimiento comercial	I	II	III	Central	Total
Muestra	125	100	91	54	370
<i>Salmonella entérica</i>	4	4	4	0	12
Porcentaje	3.2	4	4.3	0.0	3.24

Fuente: elaboración propia de los autores, 2022.

Consecuentemente, se reportan las comparaciones estadísticas luego de la aplicación de la prueba estadística Chi cuadrado, se tiene que para 3 grados de libertad y alfa de 0,05, la presencia de *Salmonella enterica* en la cutícula de huevo esboza un valor crítico de 7,815 con un p-valor de 0,507; por su parte, en cáscara se evidenció un valor crítico de 7,815 con un p-valor de 0,375; para la membrana externa, se obtuvo un valor crítico de 7,815 y p-valor de 0,498. Finalmente, para la yema un valor crítico de 7,815 y un p-valor de 0,498. Lo anterior bajo la interpretación de H0: todas las proporciones son iguales, Ha: al menos una proporción es distinta de otra. Estos resultados señalan que no se evidencia diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los

mismos, lo que establece que la presencia de *Salmonella enterica* es análoga en los cuatro establecimientos comerciales.

En la tabla 4 se identifica la especie de *Salmonella* en yema, bajo condiciones de enriquecimiento y siembra en medio selectivo XLT4; dando el número de muestra positiva en este nivel en los establecimientos comerciales, asimismo, se reporta las características culturales de las ufc positivas de *Salmonella* en el medio selectivo y las reacciones químicas llevadas a cabo para la identificación del género en medios de cultivos diferenciales para la especie que se identificó como *Salmonella enterica*.

Tabla 4. Presencia de *Salmonella* sp. en la yema de los huevos por medio de cultivo in vitro y confirmación bioquímica.

Establecimiento comercial	Identificación	Enriquecimiento en THB Siembra en XLT4	Características culturales de <i>Salmonella</i>	Pruebas bioquímicas	Determinación de especie	
I	Yema	(+) THB y XLT4	Ufc. Tamaño regular	TSI	<i>Salmonella enterica</i>	
II		8	Ufc. Con pigmentos negros	Glucosa + Lactosa - Sacarosa - H ₂ S +++ Gas ++		
III		4	Bordes regulares	LIA		Descarboxilasa
IV		4	Elevación	CIT		+
		0		INDOL	-	

Fuente: elaboración propia de los autores, 2022.

En cuanto a la presencia de *Salmonella enterica* en yema, en la entidad comercial I se concilió 4 para una muestra de 125 se representó un 3,2 %, por su parte para el mercado II se concilia 4 para una muestra de 100, representó el 4 %, para el mercado III, 4 para una muestra de 91, representó el 4,4 % en cuanto al establecimiento IV, no se encontró *salmonella* en yemas, concibiendo un total de 3,24 %.

En la tabla 5 se evidencia la presencia de microorganismos del género *Salmonella* en la cutícula del huevo, donde el 100 % de los aislamientos positivos corresponden al serogrupo C1 en los establecimientos comerciales I y 100 % del serogrupo C1 en los establecimientos II, III y IV.

Tabla 5. Determinación de serogrupos A, B, C1, C2, D y E de *Salmonella enterica* de las cepas identificadas en los huevos de uso comercial.

Establecimiento comercial	I	II	III	IV	Total
Muestra	125	100	91	54	370
Positivos	8	12	8	4	32
Serogrupos A	-	-	-	-	-
Serogrupos B	-	-	-	-	-
Serogrupos C1	8(100%)	12(100%)	8(100%)	4(100%)	32
Serogrupos C2	-	-	-	-	-
Serogrupos D	-	-	-	-	-
Serogrupos E	-	-	-	-	-

Fuente: elaboración propia de los autores, 2022.

Se evidencia en la Tabla 6 la presencia de microorganismos del género *Salmonella* en la cáscara de huevo, donde 100 % de los aislamientos positivos corresponden al serogrupo C1 en el establecimiento I, 50 % al serogrupo C1 y 50 % al serogrupo B en el II, C1 en III y C1 en IV. En cuanto a la membrana externa del huevo, el 100 % de los aislamientos corresponden al serogrupo

C1 en I, 100 % al C1 en II, 100 % al C1 en III, en cuanto al establecimiento IV no se reportan muestras positivas. Finalmente, en cuanto a la yema de huevo, el 100 % de los aislamientos positivos corresponden al serogrupo C1 en el establecimiento I, II y III, en cuanto al establecimiento IV no se obtuvieron muestras positivas.

Tabla 6. Serogrupos de *Salmonella enterica* en cáscara, membrana externa y yema de huevos

Cáscara de huevos					
Establecimiento comercial	I	II	III	IV	Total
Muestra	125	100	91	54	370
Positivos	4	8	4	4	20
Serogrupos A	-	-	-	-	-
Serogrupos B	-	4(50%)	-	-	4
Serogrupos C1	4(100%)	4(50%)	4(100%)	4(100%)	16
Serogrupos C2	-	-	-	-	-
Serogrupos D	-	-	-	-	-
Serogrupos E	-	-	-	-	-
Membrana externa					
Establecimiento comercial	I	II	III	IV	Total
Muestra	125	100	91	54	370
Positivos	4	4	4	0	12
Serogrupos A	-	-	-	-	-
Serogrupos B	-	-	-	-	-
Serogrupos C1	4(100%)	4(100%)	4(100%)	0(0%)	7
Serogrupos C2	-	-	-	-	-
Serogrupos D	-	-	-	-	-
Serogrupos E	-	-	-	-	-

Establecimiento comercial	Yema de huevo				Total
	I	II	III	IV	
Muestra	125	100	91	54	370
Positivos	8	4	4	0	16
Serogrupos A	-	-	-	-	-
Serogrupos B	-	-	-	-	-
Serogrupos C1	8(100%)	4(100%)	4(100%)	0(0%)	16
Serogrupos C2	-	-	-	-	-
Serogrupos D	-	-	-	-	-
Serogrupos E	-	-	-	-	-

Fuente: elaboración propia de los autores, 2022.

Discusiones

Los resultados recabados en cuanto a cutícula en un 8,64 % no esclarecen homogeneidad o concordancia con los reportados por Ramírez et al. (2014) y Mogollón et al. (2016), quienes identificaron la presencia de *Salmonella enterica* en la cutícula de huevos de granja donde su evidencia representó un 5,37 % y 4,93 % respectivamente en este nivel. Sin embargo, si presentan semejanza con lo reportado por Freije et al. (2019). Estos hallazgos se explican y fundamentan en el hecho que *Salmonella* tiene una capacidad de adherirse con firmeza a la cutícula por medio de estructuras de tipo lectina, que son proteínas con afinidad a ciertos azúcares que se proyectan a la zona más superficial del huevo, esto esclarecido también en los abordajes realizados por Figueroa y Verdugo (2005).

Así mismo, la presencia de *Salmonella enterica* en la cutícula del huevo se debe además que el magnum, que es el lugar del tracto reproductivo de la gallina donde se forma la cutícula del huevo, puede ser

colonizada por *Salmonella* y de esta manera incorporarse a esta zona del huevo, asimismo, esta estructura es fácilmente infectada minutos después de la oviposición, ya que en ese momento es inmadura y esta situación la hace vulnerable a factores antrópicos como este, esta aseveración se ampara con lo establecido por Castañeda et al. (2017).

Contreras et al. (2019), en suma, de conocimiento para esta investigación, establece que los humanos representan también una fuente considerable de contaminación de huevos por *Salmonella* y también los utensilios que se manejan para su comercialización. Cuando la contaminación ocurre, no se consigue mucho con mantener los alimentos refrigerados, ya que a la temperatura de congelación esta bacteria puede sobrevivir por meses, tal y como lo establece Nayarit et al. (2016).

Consecuentemente, para el nivel de la cáscara en un 5,41 % presenta similitud por lo esclarecido por Quesada et al. (2016), quienes establecieron un estudio sobre presencia de *Salmonella* en huevos frescos en mercados comerciales, evidenciando un 4,40 % de

presencia en este nivel. Estos se fundamentan en el hecho de que si bien la cáscara del huevo posee gran cantidad de poros por los cuales se lleva a cabo el intercambio gaseoso con el medio, estos a su vez constituyen una vía de entrada a varios microorganismos, asimismo, la cantidad de microorganismos del género *Salmonella* en esta estructura del huevo puede variar, ya que depende cerradamente de las condiciones de higiene de la zona, así los huevos procedentes de granja no industriales suelen estar más contaminados que los de las industrias, esto afirmado de forma consolidada por Gutiérrez et al. (2000).

De igual forma, la contaminación de la cáscara del huevo se realiza inmediatamente después de la oviposición, ya que cualquier ambiente contaminado en la zona de este alimento, así como las camas de los animales, cajas, el polvo suspendido, nidos, criaderos, heces, medio ambiente o medios de transporte pueden conducir el microorganismo infeccioso (Gómez et al., 2012). Consecuentemente, la presencia de heces de pollo facilita la supervivencia de *Salmonella* en la cáscara, puesto que sirven como un depósito nutricional necesario que proporciona a la bacteria un grado de protección física, aun así puede vivir y crecer en los huevos en ausencia de contaminación fecal y sobrevivir por un tiempo largo debido a su metabolismo lento que está inducido por las condiciones secas de la superficie, propiciando la expansión de los microorganismos en la cáscara, esto en concordancia con lo descrito por Freije et al. (2019).

Así, la membrana externa con un 3,24 % presenta semejanza con lo esclarecido por Freije et al. (2019) quienes identificaron la presencia de *Salmonella entérica* de la membrana externa de huevos de granja, estableciendo un 3,36 %, también guardando estrecha relación con los reportados por González et al. (2014); sin embargo, estos se abordaron por medio de presencia industrial.

Este discernimiento se debe a que si bien la membrana externa cuenta con tres capas de fibrina y mucina, que se encuentran firmemente adheridas a la superficie interior de la cáscara y a pesar de que esta membrana sirve como un filtro mecánico que evita la penetración de microorganismos al interior del huevo, se considera que esta contiene alrededor de 8000 poros existiendo un escaso porcentaje de poros grandes malformados con diámetros varios y superiores al de la bacteria, por donde logra penetrar hasta la membrana externa, aun minutos después de la oviposición los poros pequeños se abren dando mayor oportunidad al ingreso de bacteria explicando con ello la penetración de estas bacterias por lo que la variabilidad de penetración de *Salmonella enterica* a las diferentes estructuras del huevo se ve favorecida por la porosidad del cascarón tal y como se esclarece en los estudios de Arzálluz et al. (2007) y Castañeda et al. (2017).

Por medio de la prueba Chi-cuadrado se reportan las comparaciones estadísticas de la presencia de *Salmonella enterica* en la yema de huevo, respecto a los establecimientos comerciales, los resultados indican que no se encontró diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los mercados I, II, III y IV con una presencia de este ejemplar en 3,2 % y 0 % respectivamente, esto guarda concordancia con lo descrito por Castañeda et al. (2017). Estos resultados además presentan homogeneidad por lo descrito en el abordaje de Mogollón et al. (2016), quien identificó *Salmonella Enteritidis* en la yema de huevos de gallina ponedora.

Estos resultados se entablan en el hecho de que la yema de huevo puede contaminarse durante su formación y que la *Salmonella* es capaz de colonizar el ovario, este tipo de infección se denomina contaminación transovárica, asimismo, la contaminación puede ser oviductal por colonización de la membrana vitelina durante el paso por el oviducto tal y como lo refieren los estudios de Ramírez et al. (2014) y Mora (2018).

Los hallazgos sobre la presencia de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serogrupo C1 y *Salmonella* serogrupo B, presentan concordancia con lo esclarecido por Ramírez et al. (2014), quienes identificaron los serogrupos de *Salmonella* en cerdos de granja comercial donde hubo un total de los aislamientos 85 % correspondieron al serogrupo C1 y 10 % al serogrupo B pertenecientes a *Salmonella enterica*, serogrupos que también se conciben en otros estudios realizados por Gómez et al. (2012) en camarones de cultivo crudo y Nayarit et al. (2016) en aislamientos de carnes de res molida.

Estos resultados se encuentran enmarcados en lo suscitado que explica que la diversidad estructural del antígeno O se desarrolló durante la evolución con el fin de escapar al sistema inmune del hospedador mediante la presencia de novedosas especificaciones, razón por la cual la Organización Mundial de la Salud formuló una clasificación de *Salmonella* y de esta manera se puede esconder las unidades más profundas (lípidos A y núcleo) los cuales son esenciales para la multiplicación bacteriana, de este modo el antígeno O protege a *Salmonella* contra la acción antibacteriana de ciertos productos que pueden aplicarse a la estructura del huevo. Así, el antígeno O de la bacteria de este género no solo protege sino además de que, al tener variabilidad en su estructura, da lugar a serogrupos más agresivos, dado que el grado de invasión, virulencia y supervivencia es distinto entre serogrupos tal y como se establecen en las investigaciones realizadas por (Parra et al., 2019).

Por su parte, la relevancia de los resultados del serogrupo B se debe a que la especie al producir infección altera la expresión genética de un gran número de genes de quimioquinas, receptores de superficie celular, así como genes que no se habían implicado en la respuesta del hospedero, así esta bacteria perteneciente a este grupo capitaliza la

fagocitosis de los macrófagos para residir intracelularmente en estos donde se replica en vacuolas especializadas (Castañeda et al., 2017; Nayarit et al., 2016).

De los hallazgos reportados sobre la presencia de serogrupos A, B, C1, C2, D y E de *Salmonella enterica* de las cepas identificadas en los huevos, se acepta la hipótesis de que existen los serogrupos C1 y B de *Salmonella enterica* en las cepas de los huevos de uso comercial.

Conclusiones

La Salmonella entérica es uno de los patógenos más trascendentales transmitidos por los animales en el mundo, siendo la primera causa de brotes de intoxicación alimentaria en Latinoamérica. A pesar de todos los bríos de inspección y prevención desarrollados, los acontecimientos en las personas se han sostenido alta, por lo que diversos factores podrían estar influenciando el comportamiento epidemiológico de esta infección como el establecimiento de los serogrupos de este ejemplar. El objetivo de este abordaje fue determinar las variaciones de serogrupos de *Salmonella enterica* en huevos de uso comercial, de esta manera se refirió a ámbitos significativos dentro de esta investigación, el cual permitió entender su dispersión en las diferentes áreas del huevo (cáscara, membrana exterior, cutícula y yema) y su éxito como patógeno de un amplio rango de hospedadores de los serogrupos. A futuro, el mayor conocimiento de estos serogrupos y sus comportamientos facilitará la implementación de estrategias de bioseguridad, saneamiento y manejo de los alimentos de origen no solo de gallinas ponedoras, sino de toda la variedad de animales que se encuentran portantes o propensos a portar este patógeno severo para la prevención de la enfermedad y disminuir la vulnerabilidad en las personas y otros animales.

Referencias

- Alfaro, R. (2018). Aspectos relevantes sobre *Salmonella sp.* en humanos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 34(3), 110-122. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252018000300012
- Arzálluz, A., Rincón, H., Urdaneta, S., Arrieta, D., Boscán, L., Urdaneta, M. & Muñoz, R. (2007). Efectos de la exclusión competitiva sobre la mortalidad e índices de producción de pollos de engorde. *Revista Científica*, 17(5), 441-448. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592007000500003
- Barreto, M., Castillo, M. & Retamal, P. (2016). *Salmonella* entérica: una revisión de la trílogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. *Infectología al día*, 33(5), 547-557. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v33n5/art10.pdf>
- Bustamante, Z., Funes, F., Zamora, J., Panozo, A., Villaroel, L., Suarez, G. & Castro, R. (2009). Identificación microbiológica, molecular, serológica de *Streptococcus pneumoniae*, y determinación de la susceptibilidad a penicilina y eritromicina en la ciudad de Cochabamba. *Gaceta Médica Boliviana*, 32(2), 29-34. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662009000200006
- Castañeda, R., Pulido, A., Mendoza, M., Carrascal, A. & Sandoval, K. (2017). Detección e identificación de *Salmonella spp.* En huevos para consumo humano, provenientes de diferentes localidades de Bogotá, Colombia, 2015. *Anfectio*, 21(3), 154-159. <http://dx.doi.org/10.22354/in.v21i3.672>
- Cayo, N. & Apaza, A. (2017). Evaluación de la ciudad de Puno como destino turístico-Perú. *Comuni@cción*, 8(2), 116-124. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2219-71682017000200005&script=sci_abstract
- Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades-CCPE. (2019). *Brotos de infecciones por Salmonella vinculados a aves de corral domésticas*. Informe final de brote mundial para el año 2019. <https://www.cdc.gov/salmonella/backyardpoultry-05-19/index-esp.html>
- Contreras, M., Medrano, J., Ibarra, J., Martínez, J., Chaidez, Q. & Castro, N. (2019). Los últimos 50 años de *Salmonella* en México: fuentes de aislamiento y factores que influyen en su prevalencia e incidencia. *Revista bio Ciencia*, 6(spe), e540. <https://doi.org/10.15741/revbio.06.nesp.e540>
- Dirección General de Salud Ambiental. DIGESA. *La cual expide la norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano*. RM-615-2003-SA-DM-DIGESA. http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/Proy_RM615-2003.pdf
- Eiguer, T. & Caffer, M. (1988). Taxonomía de *Salmonella*. *Revista Argentina de microbiología*, 20(3), 151-154. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-78146>
- Figueroa, I. & Verdugo, A. (2005). Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella sp.* *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 47(1-2), 25-42. https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2005/mi05-1_2e.pdf

- Freije, J., Comba, E., Caffer, M., Alcain, A. & Pídone, C. (2019). Aislamiento de *Salmonella* spp. A partir de huevos de gallina para consumo comercializados en la ciudad de Casilda, Santa Fe, Argentina. *Revista FAVE, Sección ciencias veterinarias*, 18(1), 23-25. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2362-55892019000100006
- García, J. & Sánchez, P. (2020). Diseño teórico de la investigación: instrucciones metodológicas para el desarrollo de propuestas y proyectos de investigación científica. *Información Tecnológica*, 31(6), 159-170. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642020000600159>
- Gómez, L., Bermúdez, J., Medina, Z., López, J., Navarro, J. & Morales, E. (2012). Diversidad de serotipos de *Salmonella* en camarones de cultivo crudo congelado (*Litopenaeus vannamei*) de Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32(1), 22-28. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562012000100006
- González, J., Pereira, N., Soto, Z., Hernández, E. & Villareal, J. (2014). Aislamiento microbiológico de *Salmonella* sp. y herramientas moleculares para su detección. *Revista Salud Uninorte*, 30(1), 73-94. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-55522014000100009
- Gutiérrez, L., Montiel, E., Aguilera, P. & González, M. (2000). Serotipos de *Salmonella* identificados en los servicios de salud de México. *Salud Pública de México*, 42(6), 490-495. https://www.scielosp.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=/media/assets/spm/v42n6/3973.pdf
- Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección Intelectual. (1998). *Norma Técnica Peruana 201. 036 carnes y productos cárnicos: método de referencia para la detección de Salmonella*. 2da. Edición. Lima, INDECOPI-CRT.
- Meza, D. & Morales, S. (2020). Identificación, serotipificación y determinación del perfil de sensibilidad de *Salmonella enterica* aisladas de cloacas de tortugas de orejas rojas (*Trachemys sp*) en cautiverio, Perú. *Revista de Investigación Veterinaria del Perú*, 31(4), e19022. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i4.19022>
- Mogollón, D., Rodríguez, V. & Verjan, N. (2016). Prevalencia e identificación molecular de *Salmonella* spp. Aisladas de huevos comercializados en Ibagué, Colombia. *Revista Salud Animal*, 38(3), 164-172. <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v38n3/rsa05316.pdf>
- Mora, A. (2018). Aspectos relevantes de *Salmonella* sp en humanos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 34(3), 110-122. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenl.cgi?IDARTICULO=89065>
- Nayarit, N., Rubio, M., Delgado, E., Méndez, D., Braña, D. & Rodas, O. (2016). Perfil de resistencia a antibióticos de serotipos de *Salmonella* sp. aislados de carnes de res molida en la ciudad de México. *Salud Pública de México*, 58(3), 371-377. <https://doi.org/10.21149/spm.v58i3.7897>
- NTE-INEN-1529-15-2013. *Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Métodos de detección*. Norma Técnica Ecuatoriana. Primera revisión del año 2013. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-15-1R.pdf>

- Organización Internacional de Estandarización-ISO. (2002). *Norma ISO 6579:2002, microbiología de alimentos y alimentos para animales, método horizontal para la detección de Salmonella spp.* Información general. <https://www.iso.org/standard/29315.html>
- Organización Mundial de la Salud-OMS. (2018). *Salmonella (no tifoidea)*. Panorama general, datos y cifras mundiales. [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)#:~:text=Cada%20a%20C3%B1o%20enferman%20550%20millones,enfermedades%20diarreicas%20a%20nivel%20mundial.](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)#:~:text=Cada%20a%20C3%B1o%20enferman%20550%20millones,enfermedades%20diarreicas%20a%20nivel%20mundial.)
- Otzen, T. & Manterola, C. (2017). Técnicas de muestreo sobre una población de estudio. *International Journal of Morphology*, 35(1), 227-232. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022017000100037>
- Parra, V., Rondón, C. & García, C. (2019). Salmonelosis invasiva en un hospital de Lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 36(3), 464-468. <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2019.363.4330>
- Quesada, A., Reginatto, G., Ruiz, A., Colantoni, L. & Soledad, M. (2016). Resistencia antimicrobiana de *Salmonella spp* aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 33(1), 32-44. <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2016.331.1899>
- Ramírez, R., Rincón, D. & Vargas, J. (2014). *Salmonella Enteritidis* en huevos de gallina comercializados en Tunja (Columbia). *Salud Soc. UPTC*, 1(2), 22-27. https://revistas.uptc.edu.co/index.php/salud_sociedad/article/view/3496#:~:
- text=Conclusi%C3%B3n%3A%20La%20circulaci%C3%B3n%20de%20Salmonella,para%20la%20salud%20del%20consumidor.
- Resolución Ministerial N. ° 591-2008-MINSA. *La cual expide la aprobación de normas sanitarias que establecen los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano.* Ministerio de Salud del Perú, normas legales del año 2008. https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf
- Ruiz, F. & Estrada, R. (2021). Revisión bibliográfica: la metodología del aprendizaje basado en la investigación. *Ciencia Latina, Revista Multidisciplinaria*, 5(1), 1079-1093. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i1.312
- U.S Alimentos y Drogas. (2022). *BAM, Salmonella. Manual analítico bacteriológico.* Disposiciones generales y procesos. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-5-salmonella>
- Zambrana, A., Avilés, S., Gumucio, F., Luizaga, M., Pineda, P. & Illanes, D. (2020). Muestreo aleatorio de base espacial y su utilizad en la investigación epidemiológica. *Gaceta Médica Boliviana*, 43(1), 74-79. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1012-29662020000100012&script=sci_arttext