

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Facultad Ciencias Químicas

Departamento de Microbiología

Detección de *Salmonella* spp. en cascarón de huevo
proveniente de pequeñas granjas productoras
localizadas en diferentes localidades del estado de
Puebla.

Tesis para obtener el título de:
Licenciado en Químico Farmacobiólogo

Presentan:

Mayra Alexandra Montero Cid

Juan Emmanuel Garcia Flores

Directora de tesis: D.E.D. Claudy Lorena Villagrán Padilla

Asesora de tesis: D.C. Alma López García

Puebla, Pue. Agosto 2025

ÍNDICE

1. Introducción	pág. 2
2. Marco teórico	pág. 3
2.1 El huevo como alimento	pág. 3
2.1.1 Seguridad alimentaria del huevo	pág. 3
2.1.2 Componentes del huevo	pág. 4
2.2 Formación del huevo	pág. 6
2.2.1 Tipos de gallinas en México	pág. 9
2.2.2 Enfermedades relevantes (OIE)	pág. 9
2.2.3 Esquema de vacunación	pág. 10
2.2.4 Alimentación y medicamentos	pág. 12
2.2.5 Tiempo de vida y edad reproductiva	pág. 13
2.2.6 Procesamiento industrial del huevo	pág. 13
2.3 Salmonella	pág. 15
2.3.1 Contaminación cruzada	pág. 16
2.3.2 Pruebas de diagnóstico	pág. 17
2.3.3 Signos clínicos	pág. 17
2.3.4 Brotes y casos registrados	pág. 18
3. Marco de referencia	pág. 19
4. Planteamiento del problema	pág. 21
5. Justificación	pág. 23
6. Objetivos	pág. 24
7. Hipótesis	pág. 26
8. Diseño de la investigación	pág. 27
9. Materiales y metodología	pág. 28
10. Resultados y discusión	pág. 33
11. Conclusión	pág. 41
12. Bibliografía	pág. 42

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad México representa una alta importancia en la producción de huevo, ya que éste se encuentra en el ranking de los principales países productores y consumidores de huevo. En los cuales los estados principales son Jalisco y Puebla.

El huevo es un alimento que, por sus propiedades, su versatilidad y su bajo costo, forma parte de la canasta básica de los alimentos de México, lo cual lo convierte en un alimento de suma importancia en la dieta, es por esta razón, el huevo debe de ser un alimento inocuo y no debe representar un riesgo para la salud de los consumidores.

Salmonella es un microorganismo con alta capacidad de adaptación, con múltiples mecanismos de resistencia a los antimicrobianos y tiene la capacidad de formación de biopelículas. Esta bacteria puede contaminar el huevo por 2 vías: vertical y horizontal. Los estados en los cuales predomina la salmonelosis son: Chiapas, Veracruz, Tabasco y Puebla, esto se debe a que en estos estados prevalecen las altas temperaturas y tiene un índice de alta humedad relativa.

Existen diversas formas de contaminación de *Salmonella*, así también, Puebla es uno de los principales estados productores de huevo, por lo cual, se deben realizar estudios que aseguren que el huevo es un alimento inocuo y no presenta una amenaza o riesgo en la aparición de brotes de salmonelosis.

Con este análisis se podrá determinar si el huevo contiene o no *Salmonella* y asegurar que su consumo no es perjudicial para la salud y que cualquier persona lo puede consumir, sin embargo, si se obtiene la presencia del aislamiento de *Salmonella*, indicará que, no se están realizando de manera correcta las buenas prácticas pecuarias en la producción de huevo para el plato, lo cual, representa un riesgo potencial para la salud pública, ya que esto puede ocasionar la aparición de enfermedades emergentes provocando gastroenteritis aguda o en casos mayores el surgimiento de brotes, ocasionados por personas infectadas que laboren o se encuentren en constante manipulación de alimentos, favoreciendo la dispersión de *Salmonella*, dando como resultados la hospitalización de la ciudadanía y el surgimiento de una epidemia.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 – El huevo como alimento

El huevo es altamente nutritivo y versátil, debido a su contenido de proteínas, vitaminas, minerales y antioxidantes, hacen que éste sea un alimento esencial y benéfico, ya que ayuda en diversas funciones del organismo como mejora la absorción de vitaminas esenciales, mejora el sistema inmunológico aumentando la producción de células y anticuerpos, ayuda a la reparación del tejido muscular y en el embarazo, a través de los nutrientes ayuda al desarrollo del cerebro y médula espinal. (Gobierno de México, 2021). Es un alimento de calidad, sin embargo, para poder absorber su contenido depende de su forma de preparación, en su forma cocida, garantiza una mejor absorción de proteínas. (INPROVO, 2022). La producción de huevo para el plato en México es muy importante, ya que constituye la oferta de proteína animal de mayor calidad al menor precio, hecho que ha conducido a que México tenga desde hace algunos años el mayor consumo *per capita* de huevo en el mundo. (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, 2019).

2.1.1 - Seguridad alimentaria del huevo

El huevo se encuentra y se puede adquirir en diferentes presentaciones; sin embargo, es un alimento que puede transmitir enfermedades, debido a que éste puede contener microorganismos, los cuales pueden estar presentes en el exterior o interior del huevo. La administración de alimentos y medicamentos (FDA) es una organización que ayuda a disminuir y prevenir la contaminación del huevo en granjas, transporte y almacenamiento, sin embargo, los consumidores son la parte más importante para prevenir estas enfermedades. Los puntos más relevantes son: comprar en un lugar adecuado y observar la calidad, almacenar el producto en un lugar apropiado, observar y cuidar la manera en que se preparan y se sirve en los alimentos. La calidad del huevo es esencial para saber si se adquiere o no el producto, ya que éste debe de estar libre de suciedad de heces o no presentar alguna fractura en el cascarón, así como también, no debe presentar ningún olor desagradable. (FDA, 2022)

El almacenamiento tiene un papel importante, ya que éste puede afectar en la calidad y seguridad del producto. Este dependiendo en el estado o en qué forma se desea consumir, va a depender la forma en el que se va a almacenar, si es un huevo fresco debe permanecer a una temperatura de 4°C o menos y su uso debe de ser dentro de 3 semanas. Si es un huevo duro debe de ser consumido en la primera semana, si el huevo se desea congelar, debe de batirse la yema y clara juntas; los huevos congelados pueden durar hasta un año (FDA, 2022).

Durante la preparación y cocción del huevo, el área donde se desea preparar, así como los utensilios, equipos y superficies que se van a manipular, se deben lavar y evitar cualquier contacto externo. Al cocinar un huevo, sus componentes deben de estar totalmente firmes y debe de ser cocinado hasta o mayor a 70°C, en caso de que el platillo requiera un huevo crudo o poco cocido se tienen que usar huevos pasteurizados. (FDA, 2022)

2.1.2 – Componentes del huevo

Cada componente del huevo tiene una función esencial, por lo que esté además de ser un alimento altamente nutricional, el huevo es capaz de por sí mismo dar origen a un ser vivo. El contenido del huevo está conformado por la clara y la yema donde se encuentran los macronutrientes y micronutrientes. En el cuadro 1 se puede observar la cantidad de proteínas, grasas, vitaminas y minerales en una porción de 100 g, el valor nutricional presente en una ración de 2 huevos. (Instituto de Estudios del Huevo, 2021)

Cuadro 1. Composición nutricional del huevo

Valor nutricional del huevo	
Cantidad en 2 huevos, aproximadamente 100 g de parte comestible	
Macronutrientes	Micronutrientes

Valor energético	593 kJ – 141 kcal	Riboflavina	0,37 mg
Proteínas	12,7 g	Vitamina D	1,8 µg
Hidratos de carbono (Azúcares)	0,68 g	Ácido pantoténico	1,8 mg
		Vitamina E	1,9 mg
Grasas de las cuales:	9,7 g	Zinc	2 mg
- Ácidos grasos saturados	2,8 g	Vitamina B12	2,1 µg
		Hierro	2,2 mg
- Ácidos grasos monoinsaturados	3,6 g	Niacina	3,3 mg
		Selenio	10 µg
- Ácidos grasos poliinsaturados	1,6 g	Biotina	20 µg
		Ácido Fólico	51,2 µg
Fibra alimentaria	0 g	Fósforo	216 mg
		Vitamina A	227 µg
Sal	0,36 g	Colina	250 mg

Fuente: Instituto de Estudios del Huevo, s.f.

Las partes que conforman al huevo se en listan a continuación (figura 1): (Composición y Estructura del huevo, s.f.)

- 1.- Cascarón: rico en CaCO_3 , el color del cascarón depende de la raza de las gallinas.
- 2.- Yema: componente mayor de vitaminas, minerales, grasas y proteínas.
- 3.- Disco germinal: mancha blanca, que se sitúa en la superficie de la yema.
- 4.- Membrana vitelina: capa transparente que sostiene la yema.
- 5.- Chalaza: cordones de clara que conservan la yema en el centro.
- 6.- Cámara de aire formada al final del huevo formada por la contracción en el almacenamiento.
- 7.- Membrana de la cáscara: interna y externa, rodea la clara y protegen contra la penetración bacteriana.

8.- Clara líquida: se extiende alrededor de la clara densa en los huevos de buena calidad.

9.- Clara densa: masa firme y rica en riboflavina y proteína, se extiende menos que la clara líquida en los huevos de calidad.

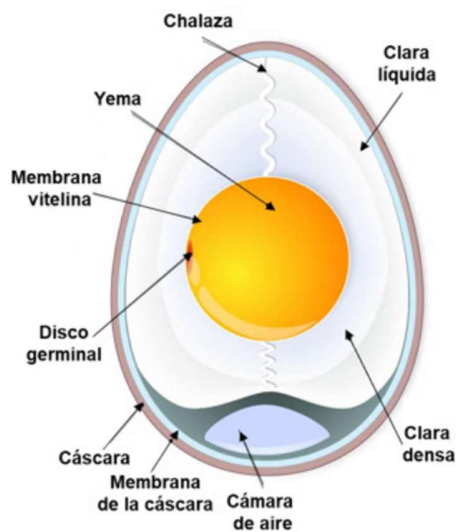


Figura 1. Estructura del huevo de gallina

Fuente: Composición y Estructura del huevo, s.f.

2.2 - Formación del huevo

La formación del huevo depende del tiempo que la gallina alcance la madurez sexual, algunos tipos la alcanzan a las 20 semanas, sin embargo, hay tipos que la presentan a las 17 y 18 semanas. El huevo dentro de la gallina se origina en un periodo de 24 a 26 horas, en este tiempo se reúnen los componentes necesarios para la formación y orientación del huevo. (Instituto de Estudios del Huevo formación, s.f.)

El aparato reproductor de la gallina se conforma de folículos, infundíbulo, istmo, magno, útero y cloaca. En el cuadro 2 se describe la funcionalidad del aparato reproductor femenino del ave y el procedimiento que se lleva a cabo para la formación del huevo, en esta tabla se

observa el mecanismo que se realiza en cada parte del aparato, observando su importancia y tiempo que permanece en cada sitio, ya que los componentes del huevo se van sintetizando y colocando en orden, cantidad y orientación adecuada. Esto repercute en la calidad del huevo, si en el proceso hay alguna anomalía la calidad se ve afectada, sin embargo, el ambiente, la alimentación y seguridad garantizan que el huevo sea viable y que este sea de calidad. (Instituto de Estudios del Huevo formación, s.f.)

Cuadro 2. Descripción y función del aparato reproductor del ave

Aparato reproductor femenino del ave			
Componentes	Descripción	Función	Ilustración
Ovario	Aspecto de racimo de uvas por la presencia de folículos, una gallina puede tener unos 4000 folículos.	Dentro del folículo crece la yema la cual depende de la concentración de pigmentos consumidos.	
Oviducto	Aspecto de tubo que mide de 60 - 70 cm de largo y tiene un peso de 40 g.	Este está involucrado en la formación del huevo, conecta los ovarios a la cloaca.	
Infundíbulo	Tiene forma de embudo. Es la entrada del oviducto y donde la yema es capturada tras la ovulación, aquí permanece entre 15 y 30 min.	Formación de dos capas externas de la membrana vitelina, estas son importantes en protección de la yema, también es el lugar donde se produce la fertilización del huevo.	
Magnum	Segmento de mayor longitud y grandes pliegues. Se encuentran gran	Inicia la formación del albumen o clara. Glándulas tubulares: secreción de ovoalbúmina y	

	cantidad de células y glándulas secretoras. Permanece aquí 3 h y 30 min	lisozima, estos equivalen al 80 % de los componentes de la clara. Células caliciformes: sintetizan avidina y ovomucina.	
Istmo	Segmento de pequeño diámetro y pliegues. Permanece aquí unos 60 a 75 min.	Formación de las membranas testáceas externa e interna	
Útero	Tiene gran diámetro y paredes musculares. Permanece aquí unos 20 a 21min	Formación de la cascara y formación de la cutícula, debido a la presencia de glándulas que formaran el agregado de calcio.	
Cloaca	Capa de fibras musculares para provocar la expulsión del huevo.	Expulsión del huevo	

Fuente: Instituto de Estudios del Huevo formación, s.f.

La curva de producción de huevo se compone de 5 fases, en las cuales se describe el tiempo y el porcentaje de postura, esto es esencial para tener un buen control de la parvada e incremento de la producción, también se puede observar el equilibrio entre los ingresos obtenidos de la venta de huevos y el costo de la alimentación de las gallinas. La primera fase recibe el nombre rompimiento; esta empieza cuando el 5 % de la parvada ya produce huevo suele presentarse entre la semana 17 y 18 de edad. La segunda fase se le llama pico de postura; Es cuando se alcanza el porcentaje máximo de producción, que generalmente es cercano al 95 %, se genera entre las 26 y 28 semanas de edad. La tercera fase se observa la

estabilidad de la producción; la parvada mantiene una ovopostura superior al 90 %. Se busca prolongar al máximo esta persistencia, favorecida con un mayor porcentaje de pico de postura. La siguiente fase se le llama descenso en la producción; Después del periodo de persistencia en la ovoposición, ésta comienza a descender a una tasa de 0.3 0.5 % semanal. Si el manejo de la parvada es adecuado, la curva será semejante a la del patrón de la línea. Si hay errores en el manejo o la sanidad, la curva se acentúa con una tendencia hacia la baja. La última fase se describe como el punto de equilibrio; se observa que la producción desciende paulatinamente a menos de 80 % de ovoposición, se llega a un punto donde los costos de la alimentación y la depreciación de las gallinas se equilibra con los ingresos obtenidos por la venta de huevo. En esta fase, se debe decidir si se continua con la parvada o se va a pelear. Este proceso se observa en las semanas 72 y 80. (Ávila *et al*,2018).

2.2.1 – Tipos de gallinas en México

En México existen diversas razas de gallinas que satisfacen las necesidades tanto para el consumo de pollo como para la producción de huevos, sin embargo, toda la diversidad se encuentra dentro de 3 clasificaciones (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2015):

Gallinas ligeras: Son aquellas que se destinan solamente para la producción de huevos.

Gallinas pesadas: Se destinan principalmente al consumo de carne.

Gallinas semipesadas: Las gallinas que se encuentran en esta clasificación se emplean tanto para la producción de huevos como para el consumo de carne.

2.2.2 – Enfermedades relevantes en la lista de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE)

Esta lista identifica las enfermedades relevantes y su grado de importancia para el comercio internacional. Las enfermedades, infecciones e infestaciones de aves en la lista vigente de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) son: Bronquitis infecciosa aviar, bursitis infecciosa (enfermedad de Gumboro), clamidiosis aviar, hepatitis viral del pato, infección por virus de enfermedad de Newcastle, infección por virus de influenza aviar, infección por virus de A de alta patogenicidad en aves que no sean aves de corral, incluye aves silvestres;

laringotraqueítis infecciosa aviar, micoplasmosis aviar, pulorosis, rinotraqueítis del pavo, tifoidea aviar. (Ávila *et al*,2018).

2.2.3 – Esquema de vacunación

La vacunación se utiliza como medida de bioseguridad para la prevención de enfermedades dentro de las industrias avícolas, sin embargo, ésta no puede ser eficaz si no es respaldada por otras medidas de bioseguridad. No existe un único calendario para la aplicación de las vacunas, ya que este depende de la edad, calidad microbiológica y serología de las aves. También se toma en cuenta la región geográfica, la infraestructura y disponibilidad de las vacunas. Existen varios tipos y vías de aplicación, sin embargo, las recomendaciones generales para su uso son las mismas. Los cuadros 3, 4 y 5 describen un posible esquema de vacunación conforme el tipo de pollo, así como también, mencionan el tiempo en que las vacunas se tienen que aplicar, el tipo de vacuna y la vía de administración. Las vacunas solo se aplican a las gallinas que se encuentran completamente sanas y dependiendo el tipo de gallinas es el esquema de vacunación que se debe de seguir, cada granja debe de contar con su propio calendario, este se debe ajustar a los requerimientos específicos de la granja. Los tipos de gallinas que cuentan con un esquema de vacunación son los pollos de engorda, aves de traspatio y gallina de postura. (Ávila *et al*,2018).

Cuadro 3. Ejemplo de calendario de vacunación para pollo de engorda

Edad (días)	Vacuna	Vía
1	Marek HVT	Subcutánea, en la incubadora
8	IBF, activa intermedia	Agua de bebida
10	ENC, activa LaSota	Ocular
	ENC, inactiva LaSota	Subcutánea
18	IBF, activa intermedia	Agua de bebida
21	ENC, activa LaSota	Agua de bebida

Fuente: Ávila *et al*,2018.

Cuadro 4. Ejemplo de calendario de vacunación para aves de traspatio

Edad	Vacuna	Vía
1 día	Marek	Subcutánea, en la incubadora
10 días	ENC, activa LaSota	Ocular
	Triple aviar (ENC, <i>Pasteurella</i> y Coriza, inactivadas)	Subcutánea
4 semanas	ENC, activa LaSota	Ocular
	Triple aviar (ENC, <i>Pasteurella</i> y Coriza, inactivadas)	Intramuscular o subcutánea
5 semanas	Viruela aviar	Punción en el ala
Revacunar contra la ENC por vía ocular cada tres o cuatro meses.		
Revacunar contra la viruela aviar cada año antes de la época de lluvias.		

Fuente: Ávila *et al*, 2018.

Cuadro 5. Ejemplo de calendario de vacunación para gallina de postura

Edad	Vacuna	Vía
1 día	Marek, activa HTV-SB1	Subcutánea, en la incubadora
8 días	Bronquitis infecciosa, activa Massachusetts	Agua de bebida
9 días	ENC, activa LaSota	Ocular
	IBF, activa Luckert	Ocular
	Viruela, activa	Punción en el ala
18 días	IBF, activa Luckert	Agua de bebida
4 semanas	ENC, activa LaSota	Ocular
	ENC- <i>Pasteurella</i> , inactiva	Intramuscular
	Coriza, inactiva	Intramuscular

5 semanas	IBF, activa Luckert	Agua de bebida
6 semanas	Bronquitis infecciosa, activa Connecticut-massachusets	Agua de bebida
9 semanas	ENC, activa LaSota	Ocular
	ENC, LaSota / bronquitis infecciosa, inactiva Massachusets	Intramuscular
	Coriza- <i>Pasteurella</i> , inactivada	Intramuscular
	Influenza, inactivada	Subcutánea
13 semanas	Viruela-encefalomielitis, activa	Punción en el ala
	Laringotraqueitis, activa	Ocular
	EDS-Bronquitis-ENC, activa	Subcutánea
15 semanas	Bronquitis, activa Connecticut-Massachusets	Agua de bebida

Fuente: Ávila *et al*,2018.

2.2.4 – Alimentación y consumo de medicamentos

La alimentación está basada en dietas con una alta densidad nutritiva y con un balance adecuado de energía, proteína, aminoácidos, vitaminas y minerales.

Las necesidades de la alimentación para las cumplir las dietas de las pollitas y gallinas depende de las fases de producción y edad que estas se encuentren; las fases de iniciación, el crecimiento, la pre-postura y la producción de huevo. El programa de nutrición y alimentación para gallinas comienza desde el primer día de vida, hasta que las aves alcanzan su madurez sexual, con un tamaño y peso optimo, esto es ideal para obtener una alta producción de huevos y un peso mayor de estos a lo largo de todo el ciclo productivo. La industria avícola mexicana elabora alimentos balanceados, tomando en cuenta la fuente de energía y proteína a base de maíz, sorgo, pastas proteicas de origen vegetal y harinas de origen animal. Los carbohidratos constituyen una fuente de energía y son necesarios en la síntesis de proteína para la formación del huevo. Los hidratos de carbono se clasifican como digeribles e indigeribles. En el caso de las aves, los carbohidratos digeribles incluyen a los

monosacáridos (glucosa y fructosa), disacáridos (maltosa, sacarosa) y polisacáridos (almidones). Los carbohidratos no digeribles son parte de la fibra y pueden ser solubles en agua (β -glucanos, pentosanos), o bien, insolubles en agua (celulosa, hemicelulosa). (Ávila *et al*, 2018).

2.2.5 – Tiempo de vida de la gallina y edad reproductiva

El tiempo de vida que se destina para las aves de producción de huevo se divide en dos fases, la primera en crianza de un día de edad hasta las 17 semanas. La segunda, de las 17 semanas de vida hasta su desecho o pelecha. La longevidad de la gallina puede ser de 7 a 15 años, sin embargo, en las granjas comerciales, las gallinas no superan los 2 años de vida, debido a que esta es la etapa más elevada para la producción de huevo, después de los dos años de vida, baja la producción, por ello, son destinadas al consumo como carne de ave. (Gairal, 2019).

2.2.6 - Procesamiento industrial de la gallina y el huevo

El procesamiento industrial del huevo inicia desde el nacimiento de las pollitas, cuando tienen 1 o 2 días de nacidas en la incubadora, son sometidas a un riguroso procedimiento el cual es necesario para poder obtener una óptima producción de huevo, en este procedimiento se vigila la alimentación balanceada, un calendario de iluminación y el sistema sanitario para poder prevenir cualquier enfermedad. Esto se realiza para poder hacer el traslado de la parvada clasificándolas de acuerdo con su etapa de desarrollo y producción de huevo. Durante el crecimiento de las pollitas se realiza una técnica diferente para el despicado, esta actividad consiste en hacer un corte de un tercio de pico, el cual depende de la edad de las pollitas y el tipo de especie. Esto se realiza con la finalidad de poder evitar actividades como el canibalismo y picaje del huevo. (Ávila *et al*, 2018).

Durante el periodo de la producción del huevo aparte de vigilar la formulación nutricional de las aves y la calidad del agua potable, se aplican y vigilan varios factores físicos, los cuales tienen importancia en el nivel de producción y disminución de riesgos de contaminación entre la parvada y producto final, los factores que están involucrados son humedad, ventilación del área, temperatura y densidad. La recolección y selección de huevo puede ser de manera automática o manual. Las características que se observan para su correcta

recolección y almacenamiento son vigilar el tamaño, aroma, la presencia de fracturas o suciedad, deformación o la calidad del cascarón del huevo se ve deficiente. El huevo que no tenga ninguna de estas características será almacenado en un área alejada de cualquier área de eliminación de desechos con la finalidad de evitar otro riesgo de contaminación. (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, 2019)

La recolección simultánea (recolección de todos los huevos al mismo tiempo y funciona a muy baja velocidad), piso a piso (transportación del huevo por medio de una cinta, la cual puede cambiar de piso) o tipo noria (transportación de los huevos en cintas longitudinales a un transportador de varillas), también son mecanismos que pueden afectar la calidad el huevo. Esta calidad se ve disminuida por un exceso de gallinas por jaula, presencia de suciedad o acúmulos de polvo, contacto con alambres cuando el huevo es recién puesto, el contacto con bandas sucias, por huevos rotos o sucios, el tamaño del huevo con un cascarón grueso puede provocar la presencia de sangre y carne. Es por ello que la recolección también es un paso importante para mantener la calidad del huevo. Después de realizar la recolección, el producto con buena calidad es almacenado e identificado, en el (Cuadro 6) se observa los datos que se deben anotar en la bitácora de producción y cómo debe ser identificado el lote de producción. Esto se realiza con el propósito de rastrear cualquier anomalía presente en el lote dentro o fuera de las instalaciones. (Ávila *et al*,2018).

Cuadro 6. Ficha para identificación del lote

Datos para el almacén, vigilancia y rastreo del lote	
Fecha de recolección	
Identificación de la nave	
Numero de lote	
Cantidad de huevo recolectado en Kg o por unidades	
Fecha de embarque	
Lote de salida	
Nombre del responsable de realizar la actividad	
Nombre de quien supervisa la actividad	

Fuente: Ávila *et al*,2018.

2.3 - *Salmonella*

Salmonella spp. pertenecen a la familia Enterobacteriaceae. Son bacilos gramnegativos anaerobios facultativos. Las especies de *Salmonella* se clasifican en serovariedades (serotipos) con base a sus lipopolisacáridos (O), proteínas flagelares (H) y, en ocasiones, antígenos capsulares (Vi). Existen más de 2,500 seroviedades conocidas. (CSFPH, 2013)

Principales especies del género *Salmonella*: *S. enterica* y *S. bongori*. *S. enterica* tiene 6 subespecies: *S. enterica* subsp. Enterica (subespecie I), *S. enterica* subsp. Salamae (subespecie II), *S. enterica* subsp. Arizonae (subespecie III), *S. enterica* subsp. Diarizonae (subespecie IIIb), *S. enterica* subsp. Houtanae (subespecie IV) y *S. enterica* subsp. Indica (subespecie VI). (CSFPH, 2013)

Subespecies y serovariedades de *Salmonella* más frecuentes en enfermedades humanas:

Las cepas que afectan a humanos y mamíferos causando enfermedades pertenecen a *S. enterica* subsp. Enterica. Algunas serovariedades – *Salmonella* ser. Typhi, *Salmonella* ser. Paratyphi y *Salmonella* ser. Hirschfeldii, son patógenos humanos. Las demás serovariedades de *Salmonella*, designadas como *Salmonella* no tifoidea, son potencialmente zoonóticas. *S. bongori*, *S. enterica* subsp. Salamae, *S. enterica* subsp. Arizonae, *S. enterica* subespecie. Diarizonae, *S. enterica* subsp. Houtanae y *S. enterica* subsp. Indica, se encuentran en organismos poiquilotermos, alguno de ellos es asociados a enfermedades humanas. (CSFPH, 2013)

La contaminación del huevo por *Salmonella* puede ser vertical y horizontal:

La transmisión horizontal se da principalmente por vía fecal-oral. Se puede transportar en el intestino o la vesícula biliar y se excretan de forma continua o puede ser intermitente a través de las heces. También pueden transportarse de forma latente en los ganglios linfáticos mesentéricos o amígdalas, esta bacteria se reactiva luego del estrés o la inmunosupresión. Los fómites y vectores también pueden propagar *Salmonella*. Las aves y los roedores pueden propagar *Salmonella* al ganado y este puede ser portador durante años. La infección se puede contraer por el consumo de carne, huevos y otros productos de origen animal que no se cocinan correctamente. (CSFPH, 2013)

Las especies de *Salmonella* spp. pueden sobrevivir durante periodos prolongados en el medio ambiente, especialmente cuando es cálido y húmedo, esta puede sobrevivir en el agua unos 152 días y en el suelo 231 días. Se ha encontrado *Salmonella typhimurium* y *Salmonella dublin* en el ambiente por más de un año. (CSFPH, 2013)

Transmisión vertical:

Esta transmisión se observa en las aves, se puede contaminar la membrana vitelina, albumen y posiblemente la yema de huevo, también puede transmitirse en el útero en mamíferos. En aves muy jóvenes, se registran casos más sintomáticos, los cuales se pueden observar como anorexia, letargo, diarrea, mayor sed y signos en el SNC (CSFPH, 2013)

2.3.1 – Contaminación cruzada de los alimentos

Es la transferencia de contaminantes biológicos a los productos alimenticios cocidos o listos para su consumo, existen diversos tipos de factores que contribuyen a la multiplicación de bacterias los cuales son ambientales, humanos, animales, tiempo, temperatura, oxígeno, agua y los nutrientes del alimento. Estos factores influyen en los nutrientes y el contenido del alimento, así como también, influye el ambiente que se encuentra alrededor de los alimentos, ya sea para su almacén, tipo o manera de distribución, lugar de adquisición para su venta y lugar donde se va a manipular el alimento para su preparación. (Ministerio de Salud de Chile, 2021)

Un alimento es un producto natural o elaborado por elementos como proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales y algunas bacterias utilizan estos elementos para su proliferación y crecimiento, dando origen a la contaminación en los alimentos. La contaminación cruzada es la transferencia de microorganismos de alimentos crudos o sin desinfectar hacia alimentos que están listos para el consumo humano. Los mecanismos de contaminación pueden ser: (COFEPRIS, 2016)

Directa: Cuando el alimento entra en contacto directo con el alimento contaminado, éstos se pueden encontrar cocidos o listos para consumir. (Baracatt *et al*, 2021)

Indirecta: Cuando el alimento es contaminado por medio de transferencia de las manos y utensilios contaminados. (Baracatt *et al*, 2021)

El consumo de alimentos contaminados por estos mecanismos puede provocar enfermedades gastrointestinales. (Baracatt *et al*, 2021)

2.3.2 – Pruebas de diagnóstico

Salmonella crece en medios tanto selectivos como no selectivos, por ejemplo, agar sangre, agar MacConkey, agar eosina azul de metileno, agar sulfito de bismuto, agar Salmonella-Shigella y agar verde brillante. Los caldos de enriquecimiento pueden incrementar la probabilidad de aislar al microorganismo suprimiendo a los microorganismos competidores. Se puede identificar la serovariedad de *Salmonella* spp. mediante exámenes serológicos de antígenos somáticos (O), flagelares (H) y capsulares (Vi). (CSFPH, 2013)

2.3.3 – Signos clínicos

La fiebre entérica es una enfermedad multisistémica. La mayoría de las veces es causada por *Salmonella* Typhi. aunque también puede ser causa por otras especies. Los síntomas de la fiebre intestinal son inespecíficos y pueden incluir: fiebre, anorexia, cefalea, letargo, mialgias y constipación. Esta puede ser mortal a causa de la meningitis o la septicemia, si no se trata inmediatamente. (CSFPH, 2013)

El síndrome de Reiter, actualmente conocida como artritis reactiva, es una respuesta inmunitaria, se observa como una secuela en algunos casos de gastroenteritis, ocurre en aproximadamente en el 4% de los casos de salmonelosis. Este se caracteriza por la presencia de artritis leve a grave, junto con uretritis, uveítis o conjuntivitis. La artritis reactiva se resuelve en 3 a 4 meses, pero la mitad de los pacientes experimenta recaídas transitorias durante varios años y puede aparecer artritis crónica. (CSFPH, 2013)

La gastroenteritis causada por *Salmonella* se caracteriza por náuseas, vómitos, calambre, dolor abdominal y diarrea que no suele ser sanguinolenta, también se puede observar dolor de cabeza, fiebre escalofríos y mialgia. Estos síntomas pueden durar días o semanas, sin embargo las personas susceptibles pueden presentar complicaciones relacionadas como apendicitis, pancreatitis, colecistitis, colangitis y absceso abdominal o perianal. (CSFPH, 2013)

2.3.4 – *Salmonella* en huevos brotes y casos registrados

Los datos epidemiológicos sobre la presencia de un brote multiestatal de infecciones por *Salmonella* Enteritidis hasta el 17 de octubre de 2024 reportan un total de 93 personas infectadas con la cepa de *Salmonella* en 12 estados. Las enfermedades comenzaron en fechas que van desde el 23 de mayo de 2024, al 13 de septiembre de 2024. De las 87 personas con información disponible, 34 han sido hospitalizadas y no se han reportado muertes. (CDC, 2024)

Es probable que el número real de personas enfermas en este brote sea mucho mayor que el número reportado. Esto se debe a que muchas personas se recuperan sin atención médica y no se les hacen pruebas de detección de *Salmonella*. En el cuadro 7 se observa la recolección de información de las personas enfermas, esto se realiza con la finalidad de dar con el origen de la infección, el lugar o alimento contaminado. (CDC, 2024)

Cuadro 7. Información sobre las personas enfermas por *Salmonella*

Demografía	Información
Edad (n=93)	Alcance de 2 a 88 años Edad media de 55 años
Sexo (n=93)	56% mujeres 44% hombres
Raza (n=88)	92% Blanco 5% Afroamericano o de Alaska 2% asiáticos
Etnia (n=89)	92% no hispano 8% hispano

Fuente: CDC, 2024

La fiebre tifoidea y paratifoidea son causadas por la bacteria *Salmonella* y cada año, millones de personas en todo el mundo sufren de estas enfermedades. Son causadas por el serotipo Typhi o Parathyphi. Se estima que al año se producen 9,2 millones de enfermedades en todo el mundo, de las cuales 5,700 enfermedades y 620 hospitalizaciones en los Estados Unidos. La mayoría de las personas se infectan mientras viajan al extranjero. (Centers for Disease Control and Prevention, 2024)

3. MARCO DE REFERENCIA

Carbó y colaboradores en el 2005, reportó brote de toxiinfección alimentaria por *Salmonella* Enterica en un establecimiento de restauración colectiva. Notifican la presencia de un brote de toxiinfección alimentaria en un salón, este fue ocasionado por la preparación de un postre de nombre biscuit glace. El número de comensales fue de 1771, sin embargo, solo 629 personas fueron encuestadas, de los cuales, el número de enfermos probables fue de 250 comensales, siendo 61 personas confirmadas por *Salmonella*. Las muestras utilizadas para la confirmación de salmonelosis fueron a través de coprocultivos (Carbo *et al*, 2005)

Castañeda y colaboradores en el 2015, realizaron la detección e identificación de *Salmonella* spp. en huevos para consumo humano provenientes de diferentes localidades de Bogotá, Colombia. Las muestras fueron obtenidas de diferentes lugares dentro de la región, por ejemplo: tiendas y plazas dentro del mercado. Se obtuvieron 96 muestras para el análisis del estudio, el 9.4% resultó ser positivo a la presencia de *Salmonella*. El 55% provenía del interior del cascarón y el 44% provenía de la parte exterior del cascaron del huevo. (Castañeda, *et al*, 2017)

Freije Ja y colaboradores en 2019, aislaron *Salmonella* spp. a partir de huevos de gallina para consumo comercializados en la ciudad de Casilda, Santa Fe, Argentina. En el estudio se recolectaron 125 huevos obtenidos de diferentes comercios. Las muestras obtenidas fueron analizadas tanto el interior y exterior del huevo y de las 125 muestras se aislaron 3 cepas de *Salmonella*, 2 cepas provenían de la yema y la otra del cascaron. (Freije *et al*, 2019)

Mancera Martínez y colaboradores en 2005, identificaron *Salmonella* Enteritidis en huevo para consumo en la ciudad de México. Se muestrearon 400 huevos de 10 marcas comerciales. Se examinó la parte interna y externa del huevo y de las muestras examinadas se obtuvieron 131 cepas bacterianas, de las cuales solo 1 cepa fue de *Salmonella* confirmando la presencia de ésta en el huevo comercial en la ciudad. (Mancera *et al*, 2005)

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, el consumo de huevo es uno de los alimentos más altos a nivel global, con una producción diaria que alcanza los 140 millones de unidades, siendo Puebla uno de los principales estados productores con una participación del 14%. A pesar de la gran demanda y producción, el huevo, al ser un alimento consumido de manera masiva, está expuesto a riesgos sanitarios que afectan tanto a los consumidores como a los productores. Una de las enfermedades más relevantes en este contexto es la salmonelosis, que ha afectado a millones de personas en el país, con 196.193 casos registrados entre 2018 y 2020, según datos del CENAPA. (SENASICA, 2021) La salmonelosis es una enfermedad que puede ser transmitida por alimentos contaminados, como el huevo y puede ser especialmente grave para poblaciones vulnerables como niños, ancianos, mujeres embarazadas y personas inmunodeprimidas.

Existen algunos alimentos que incluyen en su preparación huevo crudo o poco cocido, entre estos se encuentran: la mayonesa casera, tartar de carne, licuados, mousse de chocolate, cocteles, postres como el tiramisú, batidos y smoothies. El uso y consumo de huevo crudo presenta ciertos riesgos sanitarios, como la salmonelosis.

La salmonelosis puede presentarse en granjas comerciales y en animales domésticos, lo que convierte a las aves de corral en un foco de riesgo. En algunos casos, las aves jóvenes portadoras no presentan síntomas, lo cual dificulta la detección y esto contribuye a que se pueda propagar. Esto aumenta la probabilidad de que los consumidores sean expuestos al patógeno sin saberlo, ya que los productores no tienen el conocimiento de que *Salmonella* se encuentra en sus instalaciones, así también, los mecanismos de control sanitario tanto en la producción y distribución de huevo podrían comprometer la seguridad alimentaria y aumentar el riesgo de brotes de salmonelosis en las poblaciones.

El problema radica en la falta de conocimientos sobre las medidas efectivas de control y prevención tanto en la cadena de producción como en el consumo del huevo, favoreciendo la propagación de la salmonelosis. Este problema es mas relevante en México, ya que es un país que ha presentado en los últimos años altas tasas de enfermedades gastrointestinales y respiratorias, además, México es uno de los principales consumidores y productores de

huevo, lo que podría implicar mayores riesgos adicionales en termino de bioseguridad y monitoreo sanitario. Además, se ha observado una disminución en la susceptibilidad fluoroquinolonas y en las cefalosporinas de tercera generación en muestras de animales y en personas, haciendo visible una resistencia antimicrobiana. (CSFPH, 2013)

Es crucial investigar y mejorar los sistemas de control de calidad y detección temprana de *Salmonella* en huevo, tanto en el nivel de producción como en la distribución y en el consumo de huevo, con la finalidad de disminuir los riesgos asociados con enfermedades como la salmonelosis y garantizar la salud pública.

¿Hay presencia de *Salmonella* en el cascaron del huevo proveniente de pequeñas granjas en diferentes localidades de Puebla?

5. JUSTIFICACIÓN

México es uno de los principales países en producción de huevo a nivel mundial y al mismo tiempo Puebla es uno de los principales estados a nivel nacional. Puebla cuenta con granjas certificadas, sin embargo, dentro del estado hay una gran diversidad de pequeños productores de huevo que no cuentan con un proceso de postureo regularizado, originando un riesgo sanitario para los consumidores y productores, si estos huevos están contaminados con *Salmonella*, pueden provocar un incremento de enfermedades intestinales como la gastroenteritis. Esta bacteria puede o no desarrollar cuadros clínicos, sin embargo, existe un grupo susceptible a esta bacteria, además, se ha observado una disminución en la susceptibilidad a antibióticos, dejando en evidencia la resistencia antimicrobiana. Es por ello por lo que la presencia de esta bacteria en los alimentos puede originar la propagación a mercados, fábricas y hogares, causando una contaminación directa o cruzada hacia otros alimentos.

La presencia de *Salmonella* en los huevos tiene un alto impacto económico en los productores avícolas, debido a las pérdidas directas en el retiro del producto contaminado del mercado, restricciones tanto en la producción en las granjas avícolas y en venta del producto, afectando la competitividad del sector público, por este motivo la seguridad alimentaria influye en el consumo y exportación del producto.

Determinar la presencia temprana de *Salmonella* en el cascaron de huevo puede contribuir a la reducción de enfermedades gastrointestinales causadas por esta bacteria favoreciendo la salud a los consumidores y disminuir la pérdida económica al sector productor garantizando la seguridad alimentaria, favoreciendo un entorno de producción avícola más seguro y eficiente.

6. OBJETIVOS

General

Investigar la presencia de *Salmonella* spp. en el cascarón de huevo proveniente de pequeñas granjas en diferentes localidades de Puebla.

Particulares

1. Aislar e identificar a través de pruebas microbiológicas a *Salmonella* en cascarón de huevo.
2. Comprobar serológicamente el grupo de *Salmonella*
3. Determinar la frecuencia de *Salmonella* en cascarón de huevo proveniente de pequeñas granjas en diferentes localidades de Puebla.
4. Determinar el perfil de sensibilidad a grupos de antibióticos de fluoroquinolonas y en las cefalosporinas de tercera generación de las cepas de *Salmonella* aisladas para observar si hay presencia de resistencia.

7. HIPÓTESIS

Se detectó la presencia de *Salmonella* en cascarones de huevo provenientes de pequeñas granjas en diferentes localidades de Puebla.

No se detectó la presencia de *Salmonella* en cascarones de huevo provenientes de pequeñas granjas en diferentes localidades de Puebla.

8. DISEÑO DE LA INVESTIGACION

a) Tipo de estudio:

Prospectivo, transversal, descriptivo.

b) Universo del estudio

Huevos provenientes de pequeñas granjas en diferentes localidades de Puebla con fines de comercio

c) Tamaño de muestra

200 huevos

d) Sede y lugar del estudio

Principales municipios en la producción de huevo pertenecientes al estado de Puebla

e) Criterios de selección (Criterios de inclusión y criterios de exclusión)

Criterios de inclusión:

Huevos rojos y blancos, todos aquellos que sean puestos a disposición de la población

Criterios de exclusión:

Huevos lavados, desinfectados, rotos o que estuvieron a una exposición de más de 76°C y que no serán puestos a disposición de la población.

f) Recursos humanos

Directora:

DED Claudy Lorena Villagrán Padilla

Asesora:

D.C. Alma López García

Tesistas:

Mayra Alexandra Montero Cid

Juan Emmanuel Garcia Flores

g) Recursos financieros

Los recursos materiales y muestras serán por parte de los tesistas

h) Diseño estadístico

Se utilizará estadística descriptiva

9. MATERIALES Y METODOLOGÍA

Conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios.

Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos.

- **Materiales:**
 - Cajas Petri de 3 divisiones
 - Hisopos
 - Tubo de ensayo de 8 mL
 - Agua de peptona
 - Caldo selenito
 - Agar XLD
 - Agar MC
 - Agar SS
 - Agar TSI
 - Agar LIA
 - Agar UREA
 - Agar MIO
 - Agar CITRATO
 - Tinción de Gram
 - Portaobjetos
 - Prueba serológica

Esta norma describe un esquema general que consiste en 5 pasos básicos para la detección de *Salmonella* en alimentos:

1.- Preenriquecimiento: Es el paso donde la muestra es enriquecida en un medio nutritivo no selectivo, que permite restaurar las células de *Salmonella* dañadas a una condición fisiológica estable.

2.- Enriquecimiento selectivo: Empleado con el propósito de incrementar las poblaciones de *Salmonella* e inhibir otros organismos presentes en la muestra.

3.- Selección en medios sólidos: En este paso se utilizan medios selectivos que restringen el crecimiento de otros géneros diferentes a *Salmonella* y permite el reconocimiento visual de colonias sospechosas.

4.- Identificación bioquímica: En este paso permite la identificación genérica de los cultivos de *Salmonella* y la eliminación de cultivos sospechosos falsos.

5.- Serotipificación: Es una técnica serológica que permite la identificación específica de un cultivo.

- Procedimiento

1.- Realizar el método de hisopo previamente humedecido en agua de peptona tamponada (ATP), frotar el hisopo alrededor de todo el huevo, depositar el hisopo con la muestra en un tubo estéril con agua de peptona. Este tubo debe de estar a temperatura ambiente, homogenizar la muestra con la ayuda de un vortex.

Incubar a 36 +/- 2°C durante 18 +/- 2 horas.

2.- Cerrar firmemente el tapón de rosca de los matraces o recipientes utilizados con los cultivos de preenriquecimiento y agitar suavemente, transferir 1 mL de la mezcla a un tubo que debe contener caldo selenito.

Incubar de 18 a 24 h a 35°C

3.- Mezclar el tubo de caldo selenito y estriar en agar XLD, MC y en agar SS.

Incubar las placas 24 +/- 2 h a 35°C

4.- Examinar las placas y observar la presencia de colonias típicas de *Salmonella*, de acuerdo con las siguientes características:

- Agar XLD: colonias rosas o rojas pueden ser transparentes con o sin centro negro, en algunos casos pueden ser completamente negras

- Agar MacConkey: colonias incoloras o ligeramente coloreadas de beige.

- Agar SS: colonias translucidas, ocasionalmente opacas. Algunas colonias dan centro negro.

- Identificación bioquímica

5.- Seleccionar al menos dos colonias típicas de cada medio selectivo, que se encuentren aisladas. Tomar muestra del centro de cada colonia e inocular dos tubos, uno para agar triple azúcar hierro (TSI) y otro con agar hierro lisina (LIA), estriar en la superficie inclinada y por punción en el fondo.

Incubar por 24 +/- 2 h a 35°C

6.- Almacenar en refrigeración de 5 a 8°C las placas con medios selectivos por si fuera necesario retomar más colonias

7.- Observar el crecimiento en los tubos y considerar presuntivamente positivas para *Salmonella* las colonias que den las siguientes reacciones:

- Agar TSI: En el fondo del tubo se observa vire del indicador debido a la fermentación de la glucosa; en la superficie del medio se observa un color rojo más intenso.

-Agar LIA: se observa el color purpura en todo el tubo por la descarboxilación de la lisina. Considerar negativos aquellos que produzcan color amarillo en el fondo.

8.- Retener los medios de cultivos con reacciones características de *Salmonella* en los medios TSI y LIA para pruebas adicionales.

9.- Prueba de ureasa:

Tomar el crecimiento de cultivo presumiblemente positivo de cada tubo de medio TSI e inocular en tubos de caldo urea

Incubar a 24 +/- 2 h a 35°C.

10.- Descartar todos los cultivos que den ureasa positiva.

11.- Identificación serológica: Realizar ensayo de los antígenos somáticos de *Salmonella* (Antisuero polivalente O)

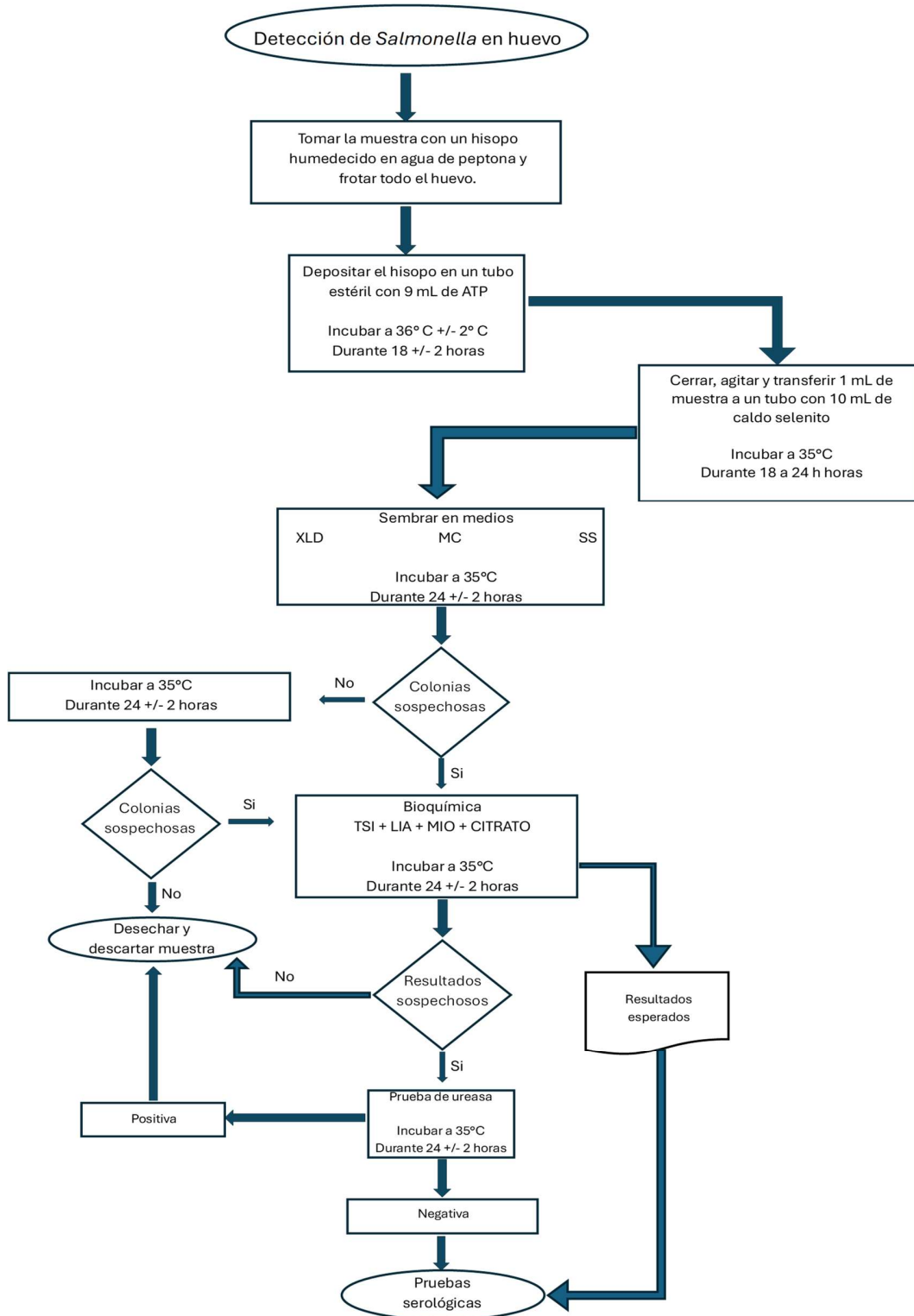
- Colocar dos gotas de solución salina en un portaobjetos y agregar una asada del cultivo TSI en cada una de las gotas. Agregar a una de ellas una gota de antisuero polivalente

somático (O) y mezclar con aplicadores. Agitar aproximadamente un min. Observar bajo buena iluminación sobre un fondo oscuro.

- Considerar cualquier grado de aglutinación como positiva

13.- Si la aglutinación es positiva con el suero polivalente O, puede determinarse el subgrupo empleando antisueros para los diferentes subgrupos (B, C, D, y E). (México. secretaría de salud , 1995)

Metodología basada en NOM-114-SSA1-1994

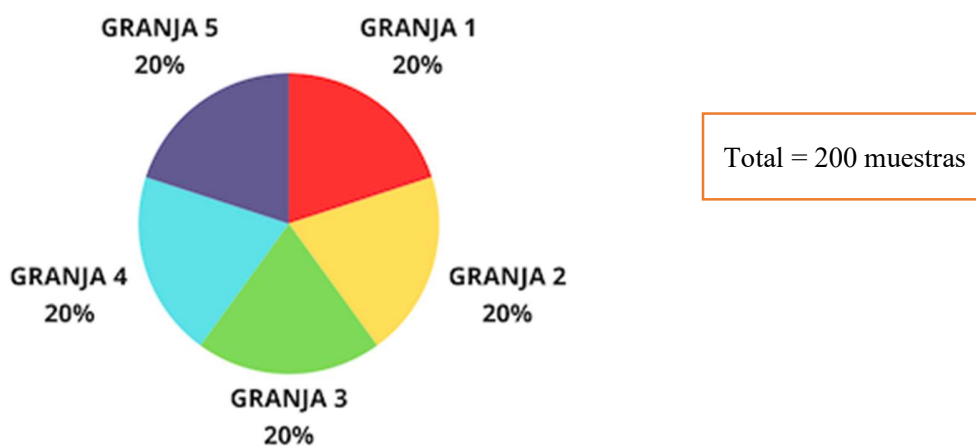


Fuente: NOM-114-SSA1-1994

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se recolectaron y analizaron un total de 200 muestras. Se consideraron 5 granjas y de cada una de ellas se obtuvieron 40 huevos (gráfica 1). Fueron seleccionados aquellos que cumplían con los criterios de inclusión.

Se realizó la siembra de las 200 muestras en medios de preenriquecimiento, enriquecimiento selectivo y posteriormente, se procedió a sembrar en medios selectivos, los medios que se ocuparon fueron agar Mac Conkey, XLD y SS.

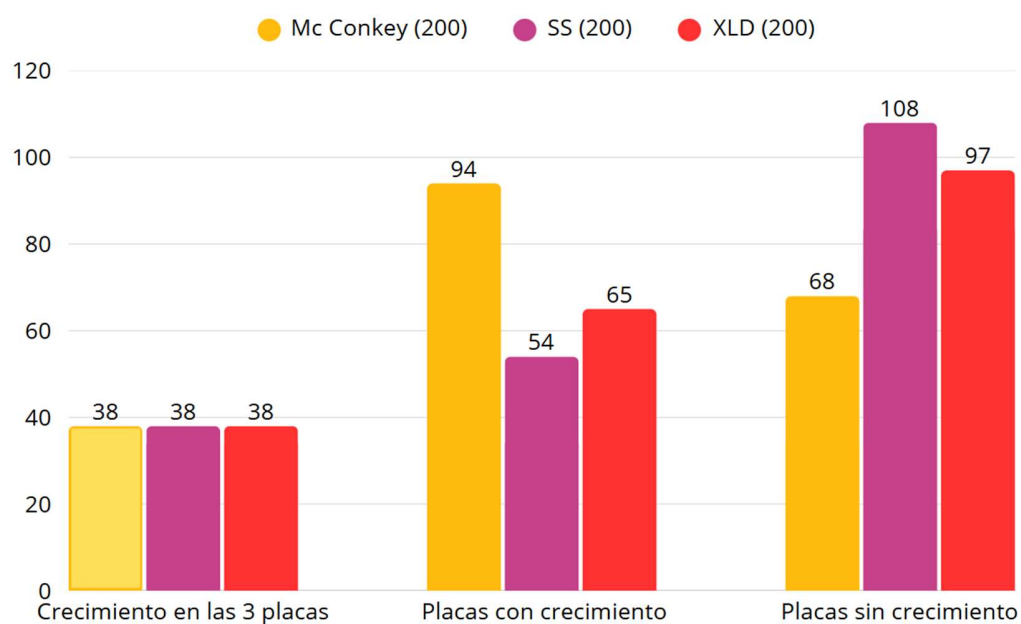


Gráfica 1.-Porcentaje que representa el total de muestras que se procesaron por granja

Cada muestra se sembró en tres placas (XLD, SS, Mac Conkey), lo que nos dio una total de 600 placas, de las cuales solo 38 muestras mostraron crecimiento bacteriano en los tres medios al mismo tiempo, y se obtuvo crecimiento en 54 placas de SS, 94 en las de Mc Conkey, 65 en las de XLD y el resto no presentó ningún crecimiento (cuadro 8) (gráfica 2).

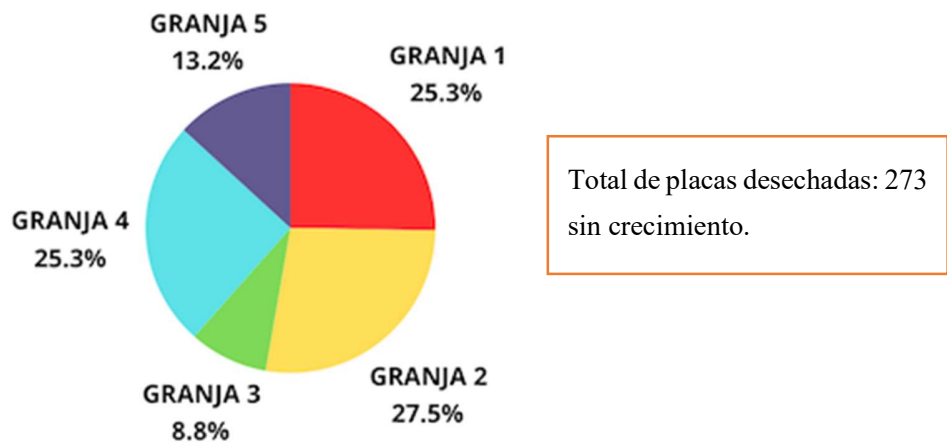
Cuadro 8.- Total de muestras que crecieron en los medios MC, XLD y SS.

	Medios de cultivo		
	Mac Conkey (200)	SS (200)	XLD (200)
Crecimiento en las 3 placas	38	38	38
Placa con crecimiento	94	54	65
Placa sin crecimiento	68	108	97
Total	200	200	200



Gráfica 2.- Total de muestras con crecimiento en los medios MC, XLD y SS.

Las placas en las que no se obtuvo crecimiento después de 72 h de incubación fueron desechadas. Se hizo una relación de las placas desechadas por granja, (gráfica 3).



Gráfica 3.- Total de placas sin contaminación por granja.

Al analizar las placas con los medios selectivos, se observó el crecimiento bacteriano y la presencia de colonias, sin embargo, algunas placas mostraron más de 2 colonias con morfologías diferentes. Se tomó la decisión de solo resembrar y preservar las colonias que crecían en las placas con el medio agar SS, ya que este es un medio que se utiliza para poder aislar *Salmonella*, debido a que contiene verde brillante y alta concentración de sales biliares, haciendo que el medio sea más selectivo y aquellas colonias sospechosas presuntivas a *Salmonella* que se encontraron en agar XLD y agar Mac Conkey.

Las colonias en el agar SS con características translúcidas, ocasionalmente opacas o con precipitado negro, fueron resembradas y retenidas para realizarles pruebas bioquímicas. Aquellas colonias en Mac Conkey con características de colonias incoloras o ligeramente grisáceas fueron resembradas con la finalidad de realizarles pruebas bioquímicas, de igual forma, las colonias presentes en el agar XLD con características de color rojo o rosadas con precipitado negro fueron resembradas para el mismo fin. Debido al gran número de muestras, se tomó la decisión de realizar en las primeras semanas la siembra hasta los medios selectivos y resguardar las placas sospechosas. En las semanas finales se realizaron las resiembras de las colonias sospechosas de agar Mac Conkey, agar XLD y agar Salmonella-Shigella.

Es importante señalar que, durante el periodo en el que se realizó la parte experimental de este trabajo, en las últimas semanas se presentaron condiciones ajenas al laboratorio, las cuales afectaron el cronograma que se tenía programado, que se extendieron del 25 de febrero

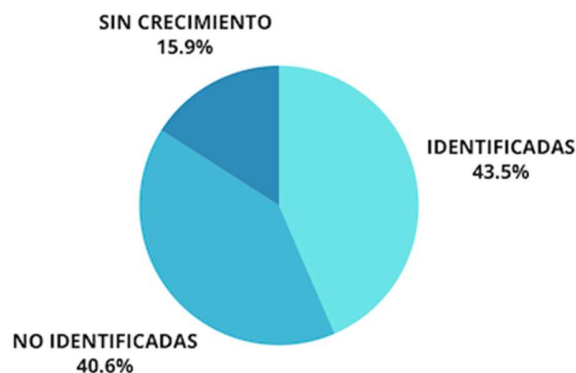
de 2025 al 2 de abril de 2025, afectando directamente la viabilidad de las muestras; en particular, 80 muestras que se sembraron esa semana y 20 muestras más que fueron resembradas; éstas permanecieron en incubación a 37° C por un periodo de seis días (del 26 de febrero de 2025 al 03 de marzo de 2025) y posteriormente fueron almacenadas en refrigeración durante aproximadamente un mes a 3°C (del 03 de marzo al 02 de abril): lo que pudo haber comprometido la viabilidad bacteriana por el largo periodo de incubación, el choque térmico al que se expusieron y el estrés causado por frío, especialmente de *Salmonella*, que requiere condiciones específicas para su supervivencia.

El estrés bacteriano surge cuando la bacteria se encuentra en condiciones que no son las adecuadas para esta bacteria, las cuales afectan o amenazan su supervivencia y reproducción. Cuando la bacteria se somete a condiciones no favorables, ésta empieza a realizar mecanismos de adaptación y defensa para poder sobrevivir a las condiciones presentes. Existen diversos tipos de estrés en bacterias, pero el estrés que más predominó en este estudio fue el estrés térmico por frío, el cual tiene que ver con el tiempo que estuvo en incubación a una temperatura de 37° C e inmediatamente se sometió a temperaturas bajas (3°C), aumentando la pérdida de viabilidad, ya que las condiciones de estrés por frío permiten que la bacteria realice ciertas modificaciones estructurales para poder sobrevivir.

La bibliografía (Kluwer Academic & Plenum , 2005) nos indica que, si se refrigeran adecuadamente tras la incubación, las bacterias pueden mantenerse viables por varias semanas, pero la desecación (secarse las placas) reduce mucho su viabilidad, que es a lo que se le atribuye la obtención de resultados. 100 muestras se mantuvieron en la incubadora por 6 días y al momento del cambio de incubadora a refrigerador, se pudo observar que algunas placas con medio de XLD presentaron la característica coloración negra asociada a la producción de ácido sulfhídrico, lo cual esta cepa sería presuntiva a *Salmonella* spp. sin embargo, al retomar las actividades (02 de abril de 2025), muchas de estas muestras se encontraban secas y sin viabilidad, se tomó la decisión de resembrar todas las placas que tenían para ver que se podría recuperar, pero no se obtuvo crecimiento en todas, lo que impidió su identificación mediante pruebas bioquímicas, este hecho sugiere que el tiempo prolongado fuera de condiciones óptimas, tanto el tiempo que permanecieron en la estufa y el choque térmico por frío que estuvieron expuestas, más el tiempo que permanecieron en refrigeración pudo afectar drásticamente la identificación de esta bacteria, y resalta la

importancia del manejo adecuado de las muestras para garantizar la confiabilidad de los resultados.

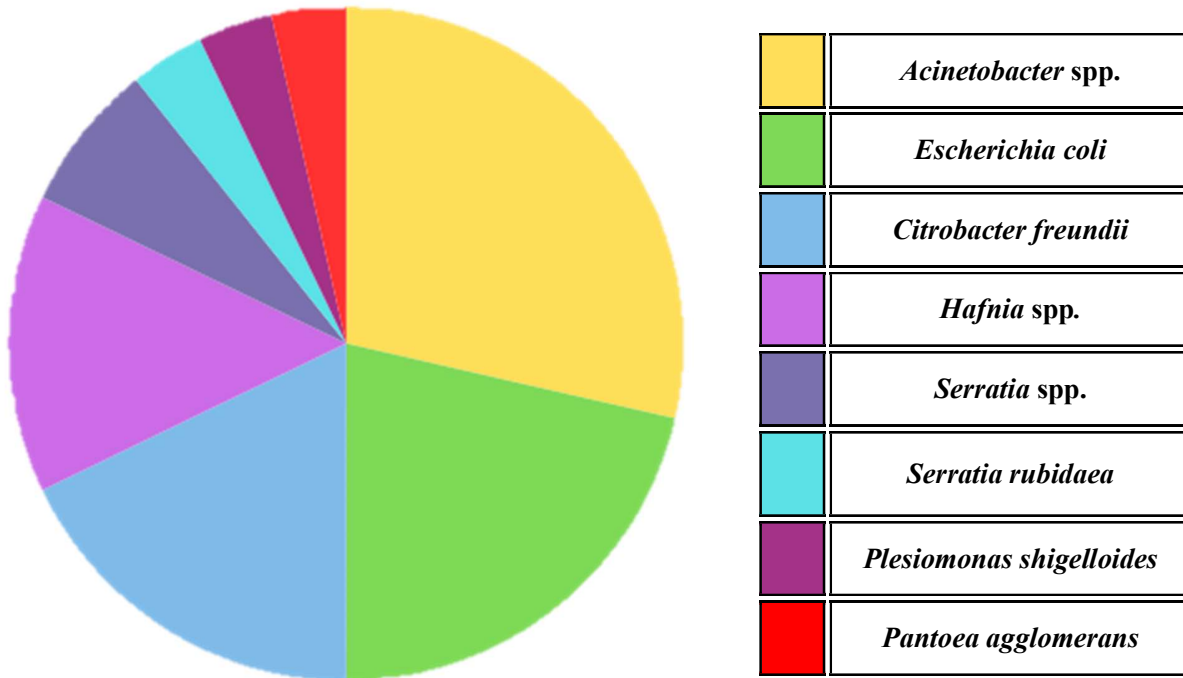
Las cepas identificadas fueron: *Acinetobacter* spp. 26.70%, *Escherichia coli* 20.00%, *Citrobacter freundii* 16.70%, *Hafnia* spp. 13.30%, *Serratia* spp. 6.70%, *Serratia rubidae* 3.30%, *Plesiomonas shigelloides* 3.30%, *Pantoea agglomerans* 3.30%. En este trabajo se recuperaron 69 cepas de las cuales solo 30 fueron identificadas y ninguna correspondió a *Salmonella* spp. Estos resultados obtenidos pudieron ser ocasionados por las condiciones que fueron sometidas las muestras, ya que estas bacterias presentan resistencia al frío y otras como *E. coli* y *Salmonella* pueden activar proteínas CPS que hacen que pueda soportar temperaturas bajas. (Kim, Bang Yos, Hong, & Bang SH, 2001). Además, estas bacterias se encuentran regularmente en ambientes húmedos o en materia orgánica. *Salmonella* es una bacteria que puede sobrevivir por más de 152 días en agua y 231 días en suelo, siempre y cuando las condiciones ambientales sean favorables en temperatura con un rango de 7°C a 48°C y una alta humedad; sin embargo, la exposición de un choque térmico en frío, puede afectar la viabilidad de la bacteria, y aunque hay estudios donde se habla que *Salmonella* también genera CPS, no se pudo aislar e identificar esta bacteria en esta investigación. En la gráfica 4 se observa el porcentaje de las muestras que se pudieron identificar (69) y cuales no, así como también, queda en evidencia que más del 50 % de las muestras finales, no se pudieron determinar cuál era la bacteria presente en la muestra, posteriormente en el (cuadro 9 y gráfica 5) muestran las bacterias que fueron identificadas en 30 muestras y cuál fue la frecuencia.



Gráfica 4.- Relación de las muestras que se pudieron identificar

Cuadro 9.- Identificación de bacterias presentes en las 30 muestras

Bacteria identificada	Número de aislamientos	Porcentaje (%)
<i>Acinetobacter</i> spp.	8	26.70%
<i>Escherichia coli</i>	6	20.00%
<i>Citrobacter freundii</i>	5	16.70%
<i>Hafnia</i> spp.	4	13.30%
<i>Serratia</i> spp.	2	6.70%
<i>Serratia rubidaea</i>	1	3.30%
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1	3.30%
<i>Pantoea agglomerans</i>	1	3.30%
Total	30	100%



Gráfica 5.- Bacterias aisladas en las 30 muestras de huevo

En el estudio se pudieron identificar bacterias que predominan en el ambiente, lo cual indica que puede ser normal encontrar la presencia de estas bacterias, sin embargo, se identificaron otras bacterias que no deberían de encontrarse en el cascarón de huevo, como, por ejemplo; *E. coli*. y *Plesiomonas shigelloides*; Estas bacterias pueden causar enfermedades en personas con un sistema inmunocomprometido, suelen encontrarse en ambientes agrícolas, pero es poco probable que se encuentren en el cascarón del huevo.

La identificación y el aislamiento de *Salmonella* en el cascarón de productos de gallina es un tema importante, debido a que es un alimento que puede consumir cualquier persona, sin importar la edad o enfermedad que un individuo presente, siempre y cuando se catalogue como un alimento inocuo, sin embargo, se ha observado que éste puede tener la presencia de *Salmonella*, lo cual hace que éste sea un alimento insalubre y pueda perjudicar cierto grupo de personas vulnerables, por ejemplo; personas menores de 5 años y mayores de 60 años, al

igual aquellas personas que presenten un sistema inmune deprimido, lo cual pueden presentar síntomas más graves y no solamente una gastroenteritis.

Este estudio se realizó con la finalidad de conocer la frecuencia de *Salmonella* en el cascarón de huevo y dar a conocer los resultados como apoyo a otras investigaciones y contribuir para minimizar la presencia de enfermedades gastrointestinales y prevenir el surgimiento de nuevos brotes provocados por *Salmonella*. En los últimos 20 años se han registrado la presencia de 2 brotes de salmonelosis, el primer brote fue en el 2005, Valencia, España, en este brote se confirmaron 61 personas infectadas con *Salmonella* por consumir huevo crudo (Carbo et al, 2005). El segundo brote fue en el 2024, EU, donde se confirmaron 93 personas infectadas con *Salmonella*, (CDC, 2024). Estos brotes nos muestran la presencia de *Salmonella*, por ello la importancia del aislamiento e identificación de esta bacteria en el cascarón de huevos de gallina.

En la república mexicana se realizó el estudio de identificación de *Salmonella* Enteritidis en huevo para el consumo en la ciudad de México, donde se muestrearon 400 huevos de 10 marcas comerciales, donde se encontraron 131 cepas bacterianas y solo 1 cepa fue de *Salmonella*, confirmando la presencia de *Salmonella* en huevos de marcas comerciales.

Se realizaron dos estudios similares al país de México, uno de ellos se realizó en el 2015, en Bogotá, donde se analizaron 96 muestras de huevo, 9 cepas fueron confirmadas de *Salmonella* (Castañeda, et al, 2017). El segundo estudio fue en el 2019, en Argentina, donde se analizaron 125 muestras de huevo y como resultado se obtuvieron 5 cepas confirmadas a *Salmonella* (Freije et al, 2019).

En presente estudio, donde se muestrearon 200 huevos procedentes de pequeñas granjas productoras localizadas en diferentes localidades del estado de Puebla se esperaba aislar e identificar a *Salmonella*, debido a que en los estudios anteriores se observa que la presencia de *Salmonella* no es completamente nula y estuvo presente por lo menos el 6 % del total de las muestras, además, Puebla es uno de los principales estados productores de huevo y las granjas donde se obtuvieron las muestras no cuentan con un registro sanitario lo cual, hizo sospechar de que podría estar presente esta bacteria y por lo tanto una alta probabilidad de aislarla, además, Puebla tiene un clima que favorece el crecimiento de esta bacteria, por su gran diversidad climática, sin embargo, debido a acontecimientos inesperados, las muestras

fueron sometidas a un choque térmico por frío, lo cual pudo ocasionar la lisis de las bacterias y la ausencia de la presencia de *Salmonella* en las muestras procesadas, por lo cual no fue posible llevar a cabo pruebas serológicas ni obtener un número que nos indicara con qué frecuencia esta bacteria está presente; de igual forma, no se pudo realizar un perfil de sensibilidad a antibióticos.

11. CONCLUSIÓN

En esta búsqueda por encontrar *Salmonella spp.* se realizó una metodología basada en normas nacionales e internacionales, para garantizar un proceso adecuado para la detección de la bacteria, sin embargo, el cambio de condiciones repentinas causó que las muestras fueran sometidas a diversos parámetros lo cual provocó que no se detectara la presencia de *Salmonella spp.* en cascarones de huevo provenientes de pequeñas granjas en diferentes localidades de Puebla en estas muestras.

Con base a los resultados obtenidos en el proceso podría ser útil replicar el estudio, teniendo en cuenta la condiciones que se presentaron, para realizar una comparación adecuada con respecto a la información epidemiológica del país y con ello tener un mejor control de pequeñas granjas no certificadas y mejorar las recomendaciones para el cuidado del consumo del huevo.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Ávila González , E., Carmona Medero, J. R., Castañeda Serrano, M., Cortés Cuevas, A., Fuente Martínez, B., García Espinosa, G., . . . Urquiza Bravo , O. (2018). *Introducción a la zootecnia del pollo y la gallina*. México: Universidad Nacional Autónoma México .
- Baracatt L., K., Maier N., L., López V., L., & Jacob C., R. A. (2021). *Manual para manipuladores de alimentos* . Santiago, Chile: Agencia chilena para la inocuidad y calidad alimentaria .
- Castañeda Salazar, R., Pulido Villamarín , A., Mendoza Gómez , M. F., Carrascal Camacho , A. K., & Sandoval Rojas, K. L. (3 de Febrero de 2017). Detección e identificación de Salmonella spp. en huevos para consumo humano en localidades de Bogotá. *infectio*, págs. 154-160.
- CDC. (17 de Octubre de 2024). *Investigation Update: Salmonella Outbreak, Eggs - September 2024*. Obtenido de CDC.: <https://www.cdc.gov/salmonella/outbreaks/eggs-09-24/investigation.html>.
- Centers for Disease Control and Prevention. (25 de Abril de 2024). *About Typhoid Fever and Paratyphoid Fever*. Obtenido de CDC: <https://www.cdc.gov/typhoid-fever/about/index.html>
- COFEPRIS. (2016). *Contaminación cruzada de los alimentos*. México: Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS).
- Composición y Estructura del huevo*. (s.f.). Obtenido de Dieta del Huevo: <https://dietadelhuevo.com/composicion-y-estructura-del-huevo/>
- CSFPH. (2013). *Salmonellosis*. Ames: The Center for Food Security and Public Health, Iowa State University.
- CSFPH. (2013). *Salmonellosis*. Ames: The Center for Food Security and Public Health, Iowa State University.
- FDA. (2022). *U.S. Food and Drug Administration*. Obtenido de <https://www.fda.gov/media/82236/download>
- Freije, J. A., Comba, E. R., Caffer, M. I., Alcain, A. C., & Pidone, C. L. (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*.
- Gairal, N. M. (7 de Julio de 2019). *Fisiología de la puesta de la gallina*. Obtenido de Veterinaria Digital: <https://www.veterinariadigital.com/articulos/fisiologia-de-la-puesta-de-la-gallina/>
- Gobierno de México. (8 de Octubre de 2021). *Gobierno de México*. Obtenido de <https://www.gob.mx/siap/articulos/el-huevo-es-alimento-y-mucho-mas?idiom=es>
- INPROVO. (19 de Mayo de 2022). *Hoy, huevo. Alimenta cuerpo y mente*. Obtenido de <https://hoyhuevo.es/el-huevo-digestivo-nutritivo-y-sano/>

- Instituto de Estudios del Huevo. (2021). *El gran libro del huevo*. España: EVEREST, S.A.
- Instituto de Estudios del Huevo. (s.f.). *Composición Nutricional del Huevo*. Obtenido de Instituto de Estudios del Huevo: <https://www.institutohuevo.com/composicion-nutricional-del-huevo/#15010>
- Instituto de Estudios del Huevo formación. (s.f.). *Formación del Huevo*. Obtenido de Instituto de Estudios del Huevo: https://www.institutohuevo.com/formacion_huevo/
- Kim, B., Bang Yos, L., Hong, S., & Bang SH, L. (1 de Octubre de 2001). *Journal of Bacteriology*. Obtenido de Expresión de cspH, Codificación de la proteína de choque frío en Salmonella enterica Serovar Typhimurium: <https://doi.org/10.1128/jb.183.19.5580-5588.2001>
- Kluwer Academic & Plenum . (2005). *Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities*. Nueva York: Springer.
- Marcera Martínez, A., Vázquez Navarrete, J., Ontiveros Corpus, M., Durán Valencia, S., López Huidobro, D., & Tenorio Gutiérrez, V. (2005). Identificación de Salmonella Enteritidis en huevo para. *Redalyc*, 229-237.
- México. secretaría de salud . (1995). *Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994: Bienes y servicios. Método para la determinación de Salmonella en alimentos*. Ciudad de México : Diario Oficial de Federación .
- Ministerio de Salud de Chile. (septiembre de 2021). *Manual para la formación de manipuladores de alimentos*. Obtenido de Agencia Chilena para la Inocuidad y Calidad Alimentaria (ACHIPIA): https://www.achipia.gob.cl/wp-content/uploads/2021/10/MANUAL_MANIPULADORES_ALUMNOS.pdf
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (7 de Junio de 2015). *Pollos, gallinas y la avicultura en México*. Obtenido de Gobierno de México: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/pollos-gallinas-y-la-avicultura-en-mexico>
- Secretaría de salud. (22 de Septiembre de 1995). *Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de Salmonella en alimentos*. Obtenido de Diario Oficial de la Federación: <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69538.pdf>
- SENASICA. (2021). *SENASICA*. Obtenido de Panorama Nacional de Salmonelosis: https://dj.senasica.gob.mx/Contenido/files/2021/febrero/72PANSalmonelosis20-01-21_f6c7023a-4def-419a-af63-ccb3e5df42f0_f6c7023a-4def-419a-af63-ccb3e5df42f0.pdf
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2019). *Manual de buenas prácticas pecuarias en la producción de huevo para plato*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/859951/Manual_de_BPP_de_Produccion_de_Huevo_Para_Plato_2019-comprimido.3.pdf: Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural.

