

Controlem la Salmonel·la?



2n Batxillerat Científic

Institut Caparrella

Curs 2013-2014

Índex

1.	Introducció.....	4
2.	El llibre blanc.....	5
3.	Descobrimnt del bacteri i alguns dels seus principals serotipus	8
4.	Antígens del bacteri Salmonel·la.....	10
4.1	Antígens somàtics (O).....	10
4.2	Antígens flagel·lars (H).....	11
4.3	Antígens Vi	11
5.	Salmonel·losi.....	12
6.	La producció de pollastres a les granges	16
7.	Programa nacional de control i vigilància de determinats serotipus de <i>Salmonella</i> en pollastres d'engreix de l'espècie <i>Gallus gallus</i>	19
7.1	Controls per a la detecció de la presència de Salmonel·la en pollastres.....	20
7.1.1	Autocontrols.....	20
7.1.2	Controls oficials	21
7.2	Criteris que es tenen en compte a l'hora d'escollir l'explotació objecte d'estudi:	22
7.3	Presa de mostres	22
8.	Tècniques per a la detecció de Salmonel·la en broilers	24
8.1	ISO 6579.....	24
8.1.1	Esquema metodològic tècnica ISO-6579	
8.1.2	Medis de cultiu emprats en la tècnica ISO-6579	27
8.2	Elisa- Vidas	33
8.3	PCR.....	34
8.4	Micro Q-Fast.....	36
9.	Control de l'ús de medicaments veterinaris antimicrobians	37
10.	Mesures en cas de detectar alguns dels serotipus objecte d'aquest programa a les mostres estudiades.....	38
11.	Disseny experimental	39

11.1 Problema.....	39
11.2 Hipòtesis	40
11.3 Desenvolupament del problema.....	41
11.4 Conclusions	42
12. Evolució dels programes nacionals de control de Salmonel·la en broilers.....	44
13. Laboratoris Mevet.....	47
14. Agraïments.....	48
15. Bibliografia.....	49
16. Annex.....	51
16.1 Full de la presa de mostres	51
16.2 Imatges procediment tècnica ISO-6579	52

1. Introducció

La Salmonel·losi és una de les principals causes d'intoxicacions alimentàries a tota Europa. Aquest fet ha portat a les autoritats a aplicar des de l'any 1993 programes nacionals de control per disminuir la prevalença de Salmonel·la en els animals i com a conseqüència disminuir també la salmonel·losi en humans.

La sortida en alguns mitjans de comunicació d'alguns casos de Salmonel·losi em van despertar la curiositat per saber més sobre aquesta malaltia degut a la gran repercussió que té en la salut pública i animal. Em van sorgir dubtes ,com per exemple quines mesures es duen a terme per tal que els aliments d'origen animal no surtin contaminats al mercat, quines tècniques o metodologies se segueixen per tal de detectar la presència de Salmonel·la i, en cas de detectar Salmonel·la, què es fa amb els aliments (si surten al mercat o no) entre d'altres.

Una altra motivació que m'ha portat a dur a terme aquest treball ha estat l'ajuda que he rebut per part de l'empresa MEVET, uns laboratoris veterinaris que pertanyen al grup Vall Companys, ja que m'han proporcionat alguna informació que jo no hagués pogut trobar per la xarxa, m'han brindat l'oportunitat de poder conèixer de primera mà algunes de les tècniques que utilitzen per a la detecció de Salmonel·la i se m'han resolt el dubtes que han anat sorgint en el transcurs del treball.

Aquest treball es centrarà en la Salmonel·losi zoonòtica en pollastres d'engreix, anomenats també *broilers*, ja que és aquest l'animal del que procedeixen les mostres amb les que es treballen als laboratoris Mevet així com també en les tècniques i protocols que se segueixen per detectar-la.

Totes les mesures, ja sigui en pollastres o en la resta d'aliments que puguin estar contaminats per Salmonel·la, es duen a terme per tal de garantir una màxima seguretat alimentària als consumidors i per a poder-los oferir les màximes garanties sanitàries.

2. El llibre blanc

El llibre blanc és un document que conté un conjunt de reformes aprovades pel consell europeu el desembre del 1999 a Hèlsinki i publicat, definitivament, el 12 de gener del 2000. Aquest document es va fer per complementar la legislació, en qüestions de seguretat alimentària, que anteriorment hi havia vigent, per tal de garantir una major seguretat alimentària a nivell europeu. Bàsicament les reformes que pretén aquest document es poden resumir en dos grups:

- Creació d'un organisme alimentari europeu independent
- Fer reformes legislatives en qüestions de seguretat alimentària

Creació d'un organisme alimentari europeu

Les anteriors crisis degudes a l'alimentació humana i animal, com per exemple, la crisi de la dioxina, els insuficients controls tant en els establiments encarregats de la producció primària dels aliments com en els que s'encarreguen de la seva posterior transformació i preparació per al consum i la falta de comunicació entre les autoritats i les empreses pel que fa en qüestions d'alertes, entre d'altres, van posar en dubte l'eficàcia de la legislació de la seguretat alimentària i si aquesta era suficient per garantir un major grau de salut a la població. Aleshores, des de la comissió europea van decidir crear un organisme alimentari independent perquè s'encarregués d'assegurar unes majors garanties sanitàries a la població i controlés de forma més exhaustiva tota la cadena alimentària des de la granja fins al consumidor, demanant, a més a més, una certa responsabilitat per totes les parts implicades en tota la cadena: fabricants; ramaders; comerciants; autoritats administratives; consumidors, ja que aquests tenen el deure d'emmagatzemar, manipular i cuinar els aliments de forma apropiada.

Bàsicament les funcions d'aquest organisme són les següents:

- Anàlisi, recollida i comunicació dels riscos alimentaris tant en humans com en animals.
- Millorar el seguiment, la vigilància, la investigació dels riscos alimentaris i la rapidesa de la informació del sistema d'alerta ràpida si es detecta alguna irregularitat alimentària i que la informació estigui a disposició dels consumidors. Actualment, la Directiva 93/43/CE, a fi d'identificar i analitzar tots els aspectes pel que fa a la seguretat alimentària i procurar que es duguin a terme els controls de seguretat apropiats, aplica el mètode de l'anàlisi de perills, punts crítics i de control (APPCC).
- A fi de crear nous sistemes de control, ja que es va veure que els que hi havia vigents eren insuficients, l'anàlisi de tot tipus de productes contaminants, com per exemple alguns tipus de plàstics d'embalatge, així com també reduir al màxim els residus dels 36 pesticides que existeixen actualment, controlar exhaustivament l'ús d'additius, etc.
- Fer millores en la formació de tot el funcionariat encarregat de dur a terme els diferents controls i inspeccions.
- Millorar la cooperació entre tots els països de la UE per tal d'establir normes en qüestions alimentàries i de salut animal per una millor gestió.

Fer reformes legislatives en qüestions de seguretat alimentària

En aquests últims anys, gràcies als avenços científics i tecnològics, han canviat moltíssim els mètodes de producció i transformació dels aliments. Conseqüentment, es va veure que els controls que es feien per garantir a la població la màxima seguretat alimentària, i que hi havia vigents fins al moment, eren insuficients i que sovint estaven força discutits entre les autoritats per aquesta qüestió. A més, després de diverses inspeccions en diferent països de la UE, se'n van adonar que els controls no eren aplicats de la mateixa manera, i per tant, la població no podia gaudir del mateix nivell de seguretat alimentària a tots els països de la UE. Aleshores un dels propòsits que es van fer amb la creació del llibre blanc va ser millorar els controls oficials a nivell nacional i europeu i els autocontrols que es fan al llarg de tota la cadena alimentària fins i tot en la producció dels aliments per als animals. Amb la millora de la legislació també pretenien garantir una major transparència en la informació entre tots els responsables de la cadena alimentària per tal de millorar la cooperació entre ells. Un altre aspecte que aquest document va millorar, van ser les mesures de seguretat d'alerta ràpida que s'han de prendre en cas d'emergències sanitàries o d'algun accident i una major fluïdesa de la informació. Pel que respecta a l'alimentació dels animals, obliga als ramaders que únicament s'utilitzin matèries i productes autoritzats en la seva producció, així com també que es duguin a terme controls més exhaustius a les instal·lacions on es fabriquen el menjar per animals, de l'ús d'additius, d'aromes alimentàries, de contaminants, de residus de pesticides, dels material que s'empren en l'emalatge, etc i l'etiquetatge de tots els aliments.

Aquestes són a grans trets les mesures legislatives que el llibre blanc tenia com a objectiu, per tal de cobrir les divergències que es van observar a nivell de seguretat alimentària i bàsicament el que es pretén és que els aliments no surtin contaminats al mercat sota cap concepte.

3. Descobriment del bacteri i alguns dels seus principals serotipus

Als anys 40, P.R. Edwards i H.W. Ewing van identificar les primeres soques d'aquest bacteri i d'altres bacteris de la família *Enterobacteriae*. Des d'aleshores, la nomenclatura d'aquest bacteri ha anat variant molt al llarg dels anys.

Estudis realitzats mitjançant la tècnica de la hibridació de l'ADN han demostrat que existeixen 2 espècies de Salmonel·la: la *Salmonella enteritidis* i la *Salmonella bongori*. Dins de cada espècie hi ha diferents subespècies. La *S. enteritidis* comprèn les subespècies següents:

- Enteritidis
- Arizonae
- Houtenae
- Salamae
- Diarizonae
- Inidica

Dins de cada subespècie de *S. enteritidis* i de l'espècie *S. bongori* hi ha diferents serotipus¹. Segons la serotipació de Kauffman i White, hi ha més de 2.200 serotipus, fet que dificulta la l'eradicació d'aquesta malaltia. Els serotipus que, majoritàriament, es troben als humans provenen de la subespècie entèrica i els que provoquen més danys i fins i tot poden causar la mort són els serotipus *paratyphimurium* i *thiphimurium* ja que causen febres tifoïdals².

Les diferències en l'estructura del bacteri Salmonel·la que fan que siguin d'un serotipus o d'un altre són degudes als lipopolisacàrids que aquests bacteris tenen a la seva membrana plasmàtica. Tots contenen una part central comuna composta per: N-acetil-glucosamina, 2-ceto-3-desoxioctonat i heptosa i un conjunt de cadenes de glúcids, entre d'altres compostos, perifèriques de composicions variades que es troben unides a la part central i que són les responsables de que el bacteri sigui d'un serotipus o d'un altre.

¹ **Serotipus:** caràcter determinat pels antígens que presenten a la seva membrana cel·lular els microorganismes infecciosos.

² **Febre tifoïdal:** malaltia que requereix una incubació d'entre 3 i 56 dies i que els seus principals símptomes són: febre, mals de cap, sensibilitat abdominal i refredats, taques a la pell, infecció del flux biliar, hemorràgies i úlceres i perforació de l'intestí causant peritonitis. Es tracta amb cloramfenicol, ampicil·lina i estreptomina.

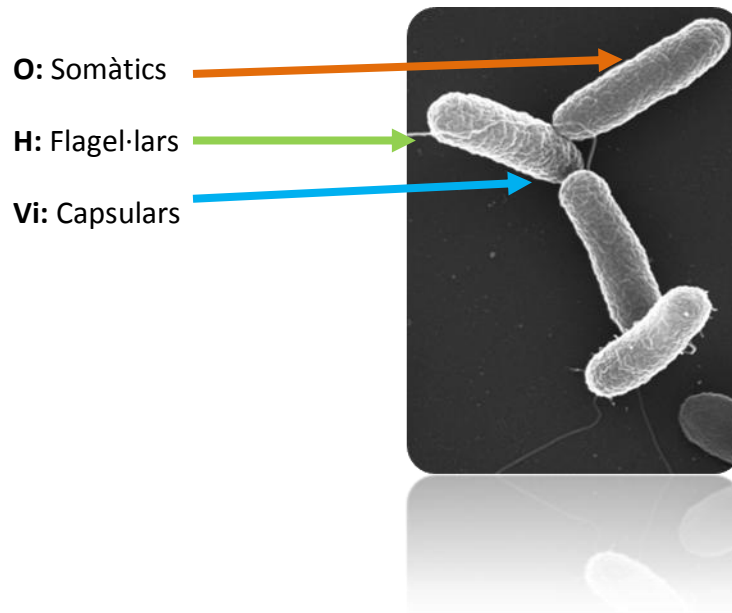
Alguns dels serotipus més coneguts, són els següents:

- ***S. choleraesius***: l'hoste acostuma a ser el porc. Pot causar malalties tifoides amb gastroenteritis aguda i febre entèrica i, si el bacteri es reproduïx, pot ocasionar pneumònia, meningitis, endocarditis, osteomielitis, etc.
- ***S. derby***: és un serotipus associat a la intoxicació per aliments i a malalties gastrointestinals.
- ***S. enteritidis***: és dels serotipus que es troben a una gama d'animals més amplia. Pot desembocar en malalties tifoïdals, intoxicacions per aliments o malalties gastrointestinals. És un dels serotipus responsables de les principals infeccions per Salmonel·la en humans.
- ***S. gallinarium***: ocasiona malalties tifoïdals en les aus i altres animals. Pot ocasionar intoxicació per aliments o gastroenteritis en humans.
- ***S. typhimurium***: serotipus que causa febre paratifoide, que es propaga des dels intestins cap a la sang i, normalment provoca, fins i tot, la mort a causa de complicacions intestinals. Es pot tractar mitjançant una dieta blana, bevent molta aigua i prenent-se antibiòtics com l'azitromicina.
- ***S. typhi***: Primerament els bacteris proliferen en el tracte gastrointestinal, després passen cap a la sang a través dels conductes limfàtics intestinals i toràcics envaint altres parts del cos. Acostumen a créixer abundantment al tracte biliar. Altres focus són els pulmons, la medul·la òssia i la melsa.
- ***S. schottmuelleri***: ocasiona símptomes semblants als de la *S. choleraesius*. És la causa més comú de febres entèriques als Estats Units
- ***S. sendai***: ocasiona símptomes molts similars als de la *S. schottmuelleri*.

4. Antígens del bacteri Salmonel·la

Les soques de Salmonel·la que contenen a la seva membrana plasmàtica la fórmula antigènica: 1,4, [5],12:1:-, són considerades factors de risc per a la salut pública.

Aquest bacteri presenta la següent estructura antigènica:



4.1 Antígens somàtics (O)

Són termostables i resistent al alcohol i a àcids diluïts. Estan compostos per complexos de fosfolípids (d'un 20 a un 30% de lípids), polisacàrids (un 60%) i entre un 3,5 a 4% de hexosamina. Les cadenes de polisacàrids estan formades per agrupacions de 3 a 5 oligosacàrids que es van repetint de manera lineal o ramificada. L'ordre d'aquestes agrupacions i els grups terminals de la cadena determinen la especificitat del antigen. Tenen especificitat antigènica a les cadenes del lipopolisacàrid (LPS) de la membrana externa que es troba a tots els bacteris gram negatiu.

4.2 Antígens flagel·lars (H)

Són termolàbils, és a dir, que si es sotmeten a altes temperatures, com que els antígens estan formats per proteïnes, aquests es desnaturalitzen i perden la seva estructura terciària. Els flagels consten de 2 parts:

- **Cos basal:** fixa el flagel a la cèl·lula.
- **Filament:** format, bàsicament, per flagel·lines, unes proteïnes d'alt pes molecular, amb un alt valor antigen, codificades per 2 gens independents: *fli C* i *fli B*.

Per a la serotipació de Salmonel·la s'estudia únicament la especificitat antigènica del filament. L'especificitat antigènica de cada filament varia segons l'estructura primària de les seves proteïnes, és a dir, de l'ordre dels aminoàcids. En el bacteri Salmonel·la s'han trobat més de 60 especificitats antigèniques flagel·lars diferents.

Els serotipus monofàsics, és a dir, que només contenen una fase flagel·lar, produeixen flagels amb la mateixa especificitat antigènica, com per exemple *Salmonella enteritidis* o *Salmonella typhi*, en canvi, els serotipus bifàsics contenen dos especificitats en el seu antígen flagel·lar.

4.3 Antígens Vi

És l'antigen més important del gènere Salmonel·la. S'anomena antígen capsular Vi de virulència i es troba únicament en els serotipus: *Typhi*, *Paratyphi C* i en algunes soques de *Salmonella dublin*. Aquests antígens emmascaren els antígens somàtics (O) i són solubles si es sotmeten a una temperatura de 100° C. Estan codificats per 2 gens: *via A* i *via B*.

5. Salmonel·losi

La salmonel·losi és una malaltia infecciosa causada pel bacteri Salmonel·la que pertany a la família dels enterobacteris³. La Salmonel·la és un bacil gram negatiu, anaerobi facultatiu, és a dir, que és capaç de dur a terme la respiració cel·lular i, en absència d'oxigen és capaç de fermentar, tot i que no fermenta lactosa, (excepte *S. enteritidis* subesp. *arizonae* i subespècie *diarizonae*).



Les mides del bacteri són: 0,7-1,5 x 2-5 µm. Com molts altres bacteris gramnegatius, alliberen per lisi els lipopolisacàrids que contenen a la seva membrana plasmàtica i que actuen com a toxines. Generalment, contenen flagels peritrics (exceptuant *S. gallinarium*).

El bacteri Salmonel·la resideix al tracte intestinal de l'hoste que infecta, és resistent al suc gàstric, al pH de l'estómac, a les sals biliars i als moviments peristàltics, fet que facilita que el bacteri arribi a l'intestí prim, el colonitzi i envaeixi els ganglis limfàtics mesentèrics sense tenir, relativament, problemes. També aquest bacteri és capaç de sobreviure a l'exterior de l'hoste.

La salmonel·losi és una malaltia contagiosa que es transmet per mitjà d'un vector, concretament, d'un animal, ja sigui domèstic o salvatge, a una persona o a un altre animal.

La infecció es pot produir per via oral (contacte fecal-oral), per mitjà del aire, de forma conjuntival, i en alguns animals, fins i tot, es produeixen transmissions intrauterines, transplacentàries i transovàriques. Si es produeix per mitjà del aire, el bacteri entra per les vies respiratòries, envaeix les amígdals i colonitza als pulmons.

Normalment la infecció en animals es produeix amb l'entrada de nous animals a les explotacions ramaderes, tot i que també es pot produir de forma indirecta per mitjà de

³ **Enterobacteris:** bacteris gram negatiu que tenen morfologia de bacils o "coccobacils" i que formen part de la "microbiota" de l'intestí i d'altres òrgans dels humans i d'alguns animals.

l'aigua i el pinso del que s'alimenten, així com també amb altres tipus d'animals com rates, mosques, ocells, etc... que entren a les granges.

Tot i que els aliments infectats més comuns amb Salmonel·la són la carn i els ous, com que es transmet molt fàcilment, de vegades el contacte d'aquests aliments amb d'altres, l' utilització d'aigües contaminades per regar els camps o l' utilització d'estris contaminats en els escorxadors ,entre d'altres motius, fan que molts altres tipus d'aliments també puguin ser els causants d'aquesta infecció. Alguns dels aliments infectats més comuns són:

- **La carn crua i el marisc:** durant el procés de matança la carn es pot contaminar ja sigui per les femtes d'animals malalts o perquè s'utilitzen estris contaminats. Es troba majoritàriament en pollastres, porcs, bestiar boví, gallines, etc. El marisc pot estar contaminat si aquest ha crescut en aigües contaminades.



- **Els ous crus:** Les causes de que els ous estiguin contaminats poden ser dues: que al estar infectades les gallines amb el bacteri els ous que produeixen estiguin contaminats o que, al estar amb contacte els ous amb les femtes de les granges, aquests també es contaminin.



- **Fruites ,verdures i hortalisses:** De vegades, s'empra aigua contaminada en el rec dels camps i en el rentat de fruites, verdures i hortalisses fet que produeix la infecció per Salmonel·la d'aquests aliments així com també es pot produir la contaminació a la cuina amb el contacte amb altres aliments contaminats.



La contaminació dels aliments i, per tant, la posterior infecció en humans acostuma a ser deguda a deficiències higenico-sanitàries, ja sigui durant el període de la producció o durant la preparació culinària.

Moltes vegades els animals són portadors de la malaltia però no la manifesten, per aquest motiu és molt important que es duguin a terme totes les mesures de bioseguretat i els controls en les explotacions ramaderes.

Quan aquest bacteri entra en contacte amb l'organisme, ja sigui d'un humà o d'un animal, destrueix les defenses intercel·lulars de les cèl·lules de les parets dels intestins. Després passa a la sang i produeix una infecció sistèmica, multiplicant-se en macròfags y es desplaça cap al fetge, la medul·la òssia, la melsa, etc. Aquest bacteri s'expulsa amb la femta.

Els símptomes de la malaltia apareixen aproximadament en un període comprès entre 8 i 72 hores i acostumen a ser els següents:

- Nàusees i vòmits
- Dolor abdominal
- Diarrea
- Febre i calfreds
- Mals de cap
- Dolors musculars (miàlgia)
- Sang a les femtes

El període d'incubació de la malaltia oscil·la entre varies setmanes o, simplement es pot reduir a unes hores tot depenen de la rapidesa amb que s'ha detectat la malaltia, si s'ha tractat amb la medicació, del sistema immunitari i de l'edat de cada persona, tot i que les cèl·lules no es recuperen fins al cap d'un parell de mesos. Si la infecció es complica pot desembocar en problemes més greus com la deshidratació, la síndrome de Reiter⁴ i fins i tot la mort en casos extrems.

⁴ **Síndrome de Reiter:** Malaltia també coneguda com artritis reactiva. Els principals símptomes que provoca són: artritis inflamatòria del genoll, inflamació dels ulls (conjuntivitis i uveïtis) i uretritis.

Dins la societat hi ha grups de persones que tenen més riscos de contreure aquesta malaltia i èpoques de l'any en què és més comuna, concretament a l'estiu. Els nens i les persones grans són més sensibles al bacteri, així com també la gent que té la SIDA, la malària, l'anèmia falciforme, la gent que es pren immunodepressors després d'haver rebut un trasplantament per reduir al màxim les possibilitats de rebuig de l'òrgan trasplantat, etc ja que tenen el sistema immunitari debilitat.

El tractament d'aquesta infecció depèn de l'edat de cada persona i dels símptomes que aquesta presenta. Els adults, si la infecció no és lleu, fent una dieta tova hidratant-se molt i prenent-se antitèrmics ja en tenen suficient per a tenir una recuperació, relativament, ràpida i eficaç. Quan la infecció és greu cal hospitalitzar el pacient i fer-li anàlisis de sang i de femta per anar controlant que el bacteri no passi a la sang. A més, és necessari subministrar-li antibiòtics, ja sigui via oral o intravenosa, per evitar que el bacteri, a través de la sang, viatgi a altres parts del cos i les colonitzi.

Sensibilitat als antibiòtics

Hi ha diversos antibiòtics com el cloramfenicol, l'ampicil·lina i el trimetoprim-sulfametazol, entre d'altres, que resulten eficaços en l'aturada de l'activitat de la Salmonel·la in vitro. Tot i això, en general, molts d'aquests resulten clínicament ineficaços.

6. La producció de pollastres a les granges

Els pollastres que estan destinats al consum de la seva carn (*broilers*) són els animals més explotats en la UE. La producció de pollastres varia segons el tipus de producció que desitgi el productor basant-se amb característiques concretes com: productivitat, qualitat i resistència a malalties, etc.

Els temps aproximat que es triga a criar un pollastre fins que arriba als 2 kg, pes aproximat òptim per a la seva comercialització, és d'uns 35-40 dies. La rapidesa en el creixement de les aus pot ser un avantatge per al productor ja que com menys temps hagi de criar els pollastres a les naus, menys despesa econòmica li suposa. Però al mateix temps, aquest creixement tant ràpid pot ser perjudicial per als animals, provocant-los problemes de salut com deformació dels ossos i poca resistència a malalties.

Hi ha diversos sistemes en la cria de *broilers*:

- Els pollastres creixen a l'interior de la nau damunt d'un llit de palla o encenalls de fusta. Aquest sistema és el que s'utilitza majoritàriament.
- En el sistema intensiu, els pollastres també creixen a l'interior d'una nau, però aquests disposen de més espai i el temps que triguen a assolir el pes de mercat desitjat és d'unes 8 setmanes.
- Hi ha d'altres sistemes en què els pollastres disposen de més espai o, fins i tot, aquests, tenen la possibilitat de sortir a l'exterior. El sistema emprat en la producció dels pollastres ha de constar en l'etiqueta del producte per a que el consumidor estigui més informat del producte que consumirà. Els principals són:

- Els pollastres de "criança a l'aire lliure" són els que, almenys durant la meitat del seu període de creixement, tenen accés diürn a corrals exteriors delimitats per vegetació o per algun tipus de tanca.



- Els pollastres de “criança a l’aire lliure tradicional”, creixen en grups reduïts i cadascun disposa del doble espai exterior que un pollastre de “criança a l’aire lliure”. Aquests tenen un període de creixement molt més lent, aproximadament d’unes 11 setmanes i a partir de la sisena tenen accés diürn a corrals exteriors.



- Els pollastres de “criança en llibertat total”, tenen accés a l’exterior igual que els de cria a l’aire lliure, però amb la diferència de que aquests tenen accés a espais els quals no estan delimitats per cap tipus de tanca.



- Els pollastres “ecològics”, són els que creixen més o menys igual que els de “criança a l’aire lliure tradicional”, però amb la diferència de que l’aliment que reben és ecològic.



- En els sistemes de producció al interior de les naus se subministra als pollastres aigua, aliment i, mitjançant diferents tipus de ventilació, aire fresc. Aquest tipus de producció fa que la majoria de pollastres arribin al pes òptim de mercat (2kg) en menys de 6 setmanes.



Durant tot el procés de la producció dels pollastres a les granges s'han de tenir en compte diversos factors per evitar que els animals adquireixin malalties o tinguin altres problemes de salut. Alguns d'aquests factors són:

- **Alimentació:** els animals han de portar una dieta sana rica en nutrients per a que creixin adequadament, rica en proteïnes, vitamines, minerals afegits i aliments que continguin cereals com el blat o el blat de moro. També és molt important que els animals disposin d'aigua potable i fresca en tot moment. A les naus acostuma a haver-hi bevedors.
- **Temperatura:** La temperatura de la nau s'ha de trobar, en tot moment, en un interval constant, ja que els pollastres són molt sensibles als canvis sobtats de temperatura i a les temperatures extremadament elevades.
- **Qualitat de l'aire:** Els pollastres en el dia a dia produeixen gasos com l'amoniac (NH_3) o diòxid de carboni (CO_2) que si s'acumulen amb grans concentracions a les naus poden resultar perjudicials per a la salut dels pollastres, per aquest motiu és important que el responsable de l'explotació realitzi controls periòdics de les concentracions de gasos dins la nau i instal·li sistemes de ventilació.
- **Qualitat de la palla:** el terra de les explotacions avícoles acostuma a estar recobert de palla o d'encenalls de fusta. La palla ha d'estar seca en tot moment perquè l'humitat i la brutícia de la palla pot causar problemes de salut als pollastres. Per aquest motiu és important que el encarregat de l'explotació renovi la palla tot sovint.
- **Espai:** Els animals han de disposar d'un mínim espai per poder desplaçar-se per la nau i sobretot si aquests són *broilers* que guanyen pes ràpidament. Si no disposen de suficient lloc poden patir problemes d'ossos i a les potes.
- **Llum:** La llum que acostumen a tenir els pollastres a les naus és artificial, ja que no hi ha finestres en la infraestructura. Per aquest motiu és important que se segueixin unes hores de llum més o menys com un dia normal a l'exterior, aproximadament s'han de provocar 6 hores de fosc per a que els pollastres descansin.

7. Programa nacional de control i vigilància de determinats serotipus de *Salmonella* en pollastres d'engreix de l'espècie *Gallus gallus*.

La Salmonel·la és la principal causa de intoxicacions alimentàries a Espanya. Per aquest motiu, cada any, des de l'any 1993 i d'acord amb la directiva 92/117/CEE, es confeccionen programes nacionals per a la vigilància i el control de determinats tipus de Salmonel·la en els diferents animals que són propensos a adquirir aquesta malaltia. Amb la introducció d'un nou mètode americà d'explotació d'aus als anys 60, la salmonel·losi aviar va ésser causada per *Salmonella pollurum* i *gallinarum*. Més tard es va acabar amb aquests bacteris i no va ser fins als anys 80 que va aparèixer una nova infecció causada per *Salmonella enteritidis* en pollastres destinats a la producció de carn. Més tard aquesta infecció es va estendre a bandades de gallines ponedores i conseqüentment als ous.

L'any 2003 es va publicar el reglament 2160/2003 del Parlament Europeu sobre control de Salmonel·la i altres agents zoonòtics, degut a la disparitat del reglament anterior en els diferents Estats de la Unió Europea. El programa inclou una sèrie de directius pel que fa a les mesures de bioseguretat i higiene de les instal·lacions on es crien i sacrificuen els pollastres, la captura de mostres oficials per a realitzar les proves de detecció de Salmonel·la, l'ús de medicaments veterinaris antimicrobians, així com també l'emmagatzematge de totes les dades pel que fa als controls i les mesures que s'han de prendre en cas de que es detecti algun dels serotipus de Salmonel·la en les mostres estudiades.

Bàsicament, els controls se centren en la detecció dels serotipus *enteritidis* i *typhimurium*, ja que són els principals serotipus causants de la transmissió d'aquesta malaltia en humans. Els casos que estan més associats a la *Salmonella enteritidis* són deguts al consum d'ous i de carn de pollastre contaminada i els que estan associats a la *Salmonella typhimurium* són deguts al consum de carn de porc, pollastre i boví contaminada.

Tots els programes de control han de complir totes les pautes establertes en el reglament (CE) N^o 2160/2003⁵ elaborat pel Parlament Europeu.

L'any 2013, l'objectiu del programa nacional per a la vigilància i el control de determinats serotipus de Salmonel·la en pollastres de carn de la espècie *Gallus gallus*, que és l'animal del que es tractarà principalment en aquest treball és ,bàsicament, la reducció a l'1% o menys el percentatge màxim de bandades de pollastres d'engreix positives als serotips de *Salmonella enteritidis* i *typhimurium*.

Els òrgans competents de cada comunitat autònoma designen els laboratoris que participaran oficialment en el programa i, per tant, realitzaran tots els controls oficials en la detecció de Salmonel·la. El Laboratori Nacional de Referència per a tots els serotipus de Salmonel·la en animals és el Laboratori Central de Sanitat Animal del Ministeri d'Agricultura, Alimentació i Medi Ambient situat a Algete (Madrid). Tots els laboratoris han de funcionar d'acord a la normativa EN/ISO 17025 de requisits generals relatius a la competència dels laboratoris d'assajos i calibratge i els resultats d'aquests tindran validesa en tot el territori nacional.

7.1 Controls per a la detecció de la presència de Salmonel·la en pollastres.

Hi ha dos tipus de mostreig:

- Els autocontrols: són els que realitzen els responsables de l'explotació sense cap tipus de supervisió per part de les autoritats.
- Els controls oficials: són els que realitzen les autoritats pertinents de manera periòdica.

7.1.1 Autocontrols

Es realitzen dins les 3 setmanes prèvies a la sortida de les aus cap a l'escorxador sota la supervisió dels responsables de l'explotació dels pollastres. Per a dur a terme un autocontrol correctament, s'ha de considerar com a bandada de pollastres el conjunt

⁵ Document oficial: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:325:0001:0015:ES:PDF>

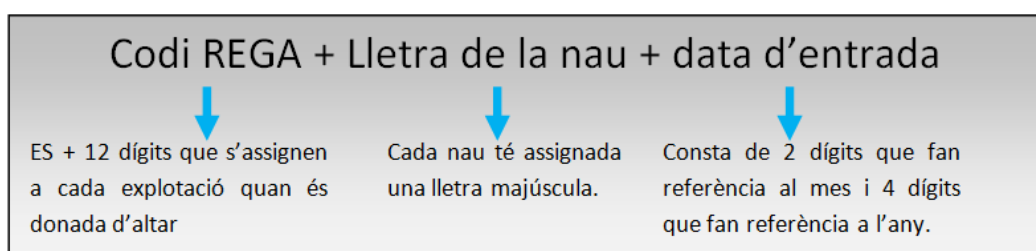
d'aquests que tinguin el mateix estatus sanitari, convisquin en les mateixes instal·lacions i constitueixin una única unitat epidemiològica⁶.

7.1.2 Controls oficials

Les bandades de pollastres objecte d'aquest programa de control han de ser mostrejades a iniciativa del productor dins d'un programa d'autocontrols i almenys una bandada de cada explotació serà mostrejada dins del pla de mostres oficials durant les 3 setmanes anteriors a la sortida dels pollastres de la nau cap a l'escorxador. Només en el cas que el cicle dels pollastres duri més de 81 dies o siguin de producció ecològica, les autoritats autoritzen el mostreig oficial dins les últimes 6 setmanes anteriors al sacrifici dels pollastres.

La presa de mostres serà efectuada pel veterinari oficial i autoritzat per part de les autoritats per dur a terme aquesta tasca. A les explotacions que continguin més de 5000 aus s'haurà de fer un control oficial d'una bandada a l'any com a mínim i si les autoritats ho consideren convenient es podran prendre mostres oficials del pinso i, l'aigua dels que s'alimenten els animals, així com també mostres ambientals per a verificar l'eficàcia de les mesures de bioseguretat, higiene i desinfecció de les instal·lacions. En les comunitats autònomes que hi hagi 10 explotacions o menys es realitzarà un control oficial com a mínim d'una explotació.

En tots dos tipus de control, les bandades de pollastres han d'estar identificada amb:



Les mostres han d'anar acompanyades del "full de la presa de mostres"⁷, un formulari en el qual s'indiquen dades com: la identificació de la bandada, el tipus de control, si és oficial o no, les dades de l'explotació, les dades de la bandada mostrejada, etc. Tota la

⁶ **Epidemiologia:** estudi de la distribució, freqüència, les causes i el control dels factors relacionats amb la salut i malaltia. Estudia, sobretot, la relació causa-efecte entre exposició i malaltia.

⁷ Veure full de presa de mostres a l'annex.

informació dels controls oficials queda enregistrada en una aplicació informàtica ⁸ dissenyada pel ministeri d'agricultura i medi ambient.

7.2 Criteris que es tenen en compte a l'hora d'escollir l'explotació objecte d'estudi:

1) Característiques de les explotacions:

- orientació productiva
- dimensió de l'explotació
- densitat avícola provincial

2) Historial de les explotacions:

- es prioritzen aquelles explotacions de les quals no es tingui informació de mostres d'altres anys.
- evolució dels resultats obtinguts de les mostres d'altres anys.

3) Incompliments:

- es prioritzen aquelles explotacions en les quals s'hagin detectat irregularitats en els controls de les mesures de bioseguretat i aquelles en les que s'hagin detectat resultats positius pel que fa a la Salmonel·la.

7.3 Presa de mostres

La presa de mostres es pot du a terme de dos maneres en funció de la quantitat de pollastres que hi ha a la nau. En el cas de que la nau compti amb més de 100 pollastres s'empren un parell peücs de material absorbent prèviament humitejades amb un compost format per un



⁸ <http://aplicaciones.magrama.es/ATCinicio>

0,8% de clorur de sodi i un 0,1% de peptona en aigua destil·lada estèril que es col·loquen a sobre les botes o el calçat que duguin els avicultors i aquests han de recórrer tota la nau (uns 100 passos aproximadament) de manera que quedin representats tots els racons de la nau. Si la nau no conté més de 100 pollastres la recollida de mostra es fa manualment, es col·loquen els peücs sobre les mans cobertes per uns guants i es freguen les superfícies on hi hagi femtes fresques.

Un cop recollides les mostres s'han de treure els peücs amb cura de que no es desprengui la mostra i es guarden en un recipient tancat i etiquetat de manera adequada i a una temperatura de refrigeració.



Les mostres han de ser enviades als laboratoris oficials determinats per les autoritats dins les 24 hores posteriors a la presa de mostres i si no es fa dins d'aquest període s'han de mantenir refrigerades.

El transport de les mostres cap als laboratoris es pot fer a temperatura ambient, sempre i quan no es superin els 25°C i no es produeixi una exposició a la llum del sol.

Un cop estiguin al laboratori es mantindran refrigerades fins que comenci la seva anàlisi que es durà a terme dins de les 48 hores posteriors a la recepció de les mostres i les 96 hores posteriors a la captura d'aquestes.

8. Tècniques per a la detecció de Salmonel·la en broilers

Actualment existeixen 4 tècniques per a la detecció de Salmonel·la. Tot i que, de totes elles, només una és la oficial. Hi ha un reglament, anomenat EN/ISO 6579, que estableix el mètode que s'ha de dur a terme en la detecció de Salmonel·la en els aliments i en el pinso. En el reglament (CE) n° 2073/2005 especifica que aquest és el mètode de referència pel que fa a la detecció de Salmonel·la. Les altres tres tècniques són: l'ELISA-VIDAS, la Micro Q-Fast i tècniques PCR, és a dir basades en les reaccions polimerasa de l'ADN, en aquest cas concret del pollastres.

8.1 ISO 6579

Aquesta tècnica es duu a terme en 4 passos:

1) Pre-enriquiment del cultiu: Aquest pas és necessari per a mostres que contenen concentracions baixes del bacteri. La capacitat tampó que té l'aigua de peptona, líquid en el qual submergim la mostra, facilita la regulació del pH i, consegüentment, el creixement del bacteri.

2) Enriquiment selectiu:

■ Facilita el creixement de Salmonel·la i inhibeix el creixement d'altres microorganismes que puguin portar a confusions en la identificació del bacteri.

■ Les característiques del bacteri són les que condicionen l'ús d'un medi de cultiu o d'un altre. En aquest cas, algunes d'elles són:

- Reproducció del bacteri a pH relativament baix
- Requeriment de pocs nutrients
- Resistència a la Novibiocina

3) Sembra i identificació de la mostra: En aquesta fase s'empren medis de cultiu selectius sòlids com el XLD. Se sembren les plaques amb medi XLD a partir de les mostres de MSR/V que hagin donat positives en el pas anterior. Els medis de cultiu han de inhibir tota la flora que pugui contenir la mostra i permetre el creixement i la diferenciació de Salmonel·la. Els principis actius bàsics dels medis de cultiu que s'utilitzen són els següents:

■ Sistema indicador mitjançant:

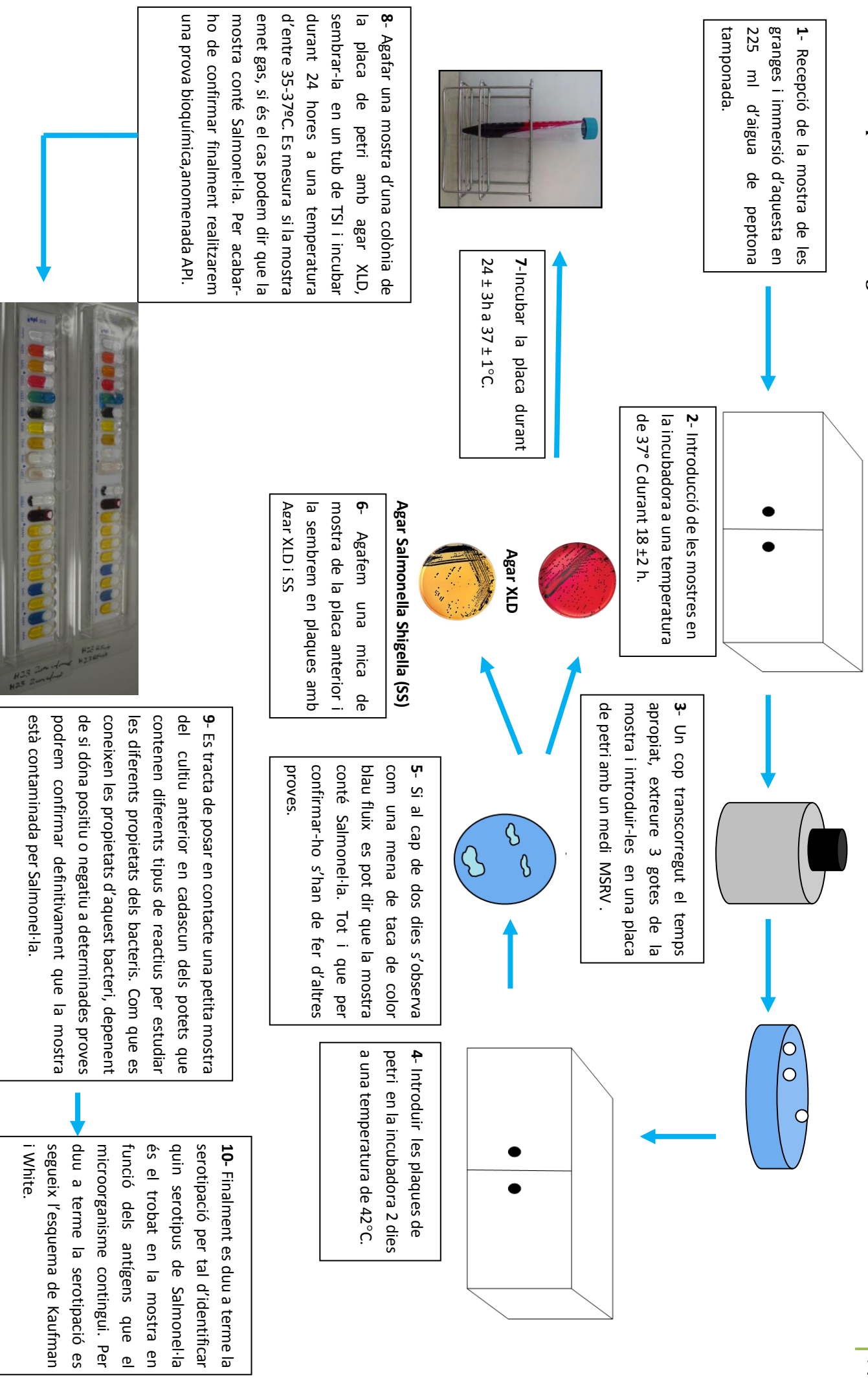
- La producció de H₂S
- La fermentació de carbohidrats

■ Inhibició de la flora competitiva mitjançant l'ús de:

- Sals biliars
- Verd brillant
- Antibiótics

4) Confirmació de la presència del microorganisme: Un cop realitzats tots els passos anteriors, si la mostra continua donant positiu, es realitzen proves bioquímiques en funció de les característiques del bacteri, com per exemple un API (*Analytical Profile Index*), per tal de confirmar la presència de Salmonel·la en la mostra. S'ha d'agafar com a mínim una colònia sospitosa de les plaques de petri amb medi sòlid.

8.1.1 Esquema metodològic tècnica ISO-6579



8.1.2 Medis de cultiu emprats en la tècnica ISO-6579

Medi MSRV (MODIFIED SEMISOLID RAPPAPORT VASSILIADIS MEDIUM)

S'empra per a la detecció ràpida de Salmonel·la mòbil.

Composició

Reactius	Quantitat
Clorur de magnesi	10,93g
Clorur de sodi	7,34g
Triptòfan	4,59g
Àcid de peptona de caseïna	4,59g
Dihidrogen fosfat de potassi	1,47g
Oxalat de verd de malaquita	37mg
Novobiocina	0,01g
Agar	2,7g
Aigua	1000ml

El pH del medi és $5,2 \pm 0,2$

Preparació

Mesclar la quantitat exacta esmentada en el quadre anterior de cada reactiu amb 1L

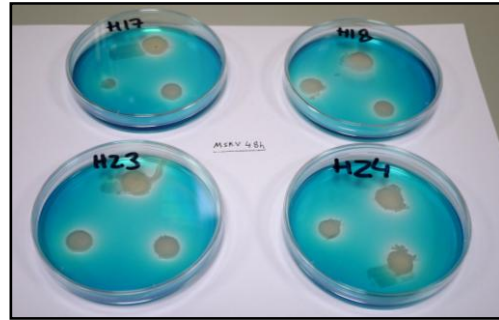


d'aigua destil·lada en un vas de precipitats. Escalfar el medi fins a que aquest arribi a l'ebullició. Posteriorment refredar a una temperatura entre 45-50°C al bany maria i finalment abocar el medi en plaques de petri estèrils. El medi no es pot esterilitzar en els autoclaus com s'acostuma a fer amb la majoria de medis abans de ser

abocats a les plaques que han de ser emmagatzemades a una temperatura entre 2-8°C. El color del medi és blau.

Fonaments del medi de cultiu

Es basa en la detecció de la capacitat que té Salmonel·la de desplaçar-se pel medi de cultiu. La mobilitat d'altres bacteris està inhibida per mitjà del clorur de magnesi, el verd malaquita, l'oxalat, la novobiocina (inhibeix els bacteris gram positius) i també per la temperatura en què s'incuba que és d'uns 42°C.



El triptòfan i l'àcid de peptona de caseïna proporciona als microorganismes els aminoàcids essencials⁹, les vitamines, els minerals i el nitrogen necessaris per al creixement de la Salmonel·la.

El clorur de sodi és necessari per mantenir l'equilibri osmòtic. Es sembren tres gotes de la mostra en el medi de cultiu i es deixa incubar durant 20 h a 42°C. Un cop passades aquestes hores si a la mostra hi ha Salmonel·la es pot observar com al voltant dels llocs on hem introduït les gotes de la mostra, s'ha format cercle d'un color blau més clar. És necessari realitzar més proves per tal de determinar la presència de Salmonel·la.

⁹ Aminoàcids essencials: aminoàcids que no es poden sintetitzar i per tant s'han d'ingerir mitjançant la dieta.

Medi XLD

Aquest medi conté bàsicament Xilosa, Lisina i Desoxicolat. S'empra per a l'aïllament de bacteris gram negatius, ja que el desoxicolat de sodi que conté actua com a inhibidor dels bacteris gram positius.

Composició

Reactius	Quantitat
Xilosa	3,75g
L-Lisina	5g
Lactosa	7,5g
Sacarosa	7,5g
Clorur de sodi	5g
Extracte de llevat	3g
Vermell fenol	0.08g
Desoxicolat de sodi	2,5g
Tiosulfat sòdic	6,8g
Citrat fèrric amoniacal	0,8g
Agar	15g
Aigua destil·lada	1000ml

El pH del medi és $7,4 \pm 2$

Preparació

Mesclar la quantitat exacta esmentada en el quadre anterior de cada reactiu amb 1L d'aigua destil·lada en un vas de precipitats. Escalfar el medi fins a que aquest arribi a l'ebullició. Posteriorment refredar a 45-50°C al bany maria i finalment abocar el medi en plaques de petri estèrils. El medi no es pot esterilitzar en els autoclaus com s'acostuma a fer amb la majoria de medis abans de ser abocats a les plaques.

Fonaments del medi de cultiu

Els microorganismes que es cultiven en aquests medi, per mitjà de la degradació dels carbohidrats (xilosa, lactosa i sacarosa) provoquen l'acidificació del medi i, com a conseqüència es torna d'un color groguenc. Aquest medi conté xilosa ja que tots els bacteris gram negatius la fermenten, exceptuant Shigel·la. Aquesta propietat d'aquest bacteri permet diferenciar-lo de la resta de bacteris gram negatius. La lisina s'empra en el medi per diferenciar la Salmonel·la de la resta de bacteris ja que la Salmonel·la, en absència de xilosa, fermenta la lisina. Com que la presència de xilosa és reduïda, un cop esgotades les substàncies de xilosa en el medi, la Salmonel·la fermenta la lisina provocant una basificació del medi i que aquest es torni de color vermellós de nou. A més, per diferenciar la Salmonel·la de Shigel·la el medi conté sacarosa i lactosa que fan que per mitjà de la fermentació d'aquests glúcids la Shigel·la produeixi substàncies molt àcides i el medi es torni de color groguenc.



Gràcies al tiosulfat sòdic i el citrat fèrric amoniacal, aquest medi, també té la capacitat de detectar la producció de H₂S per part dels bacteris. La producció de sulfur d'hidrogen s'evidencia per mitjà de l'aparició en el centre de les colònies uns punts negres. Els bacteris no patògens que també produeixen H₂S, com que no degraden la lisina, però si la xilosa, provoquen una acidificació del medi que impedeix la formació de punts negres en el centre de les colònies d'aquests bacteris en el medi.

Agar Salmonel·la Shigel·la (SS)

Medi utilitzat per diferenciar patògens entèrics, especialment la Salmonel·la

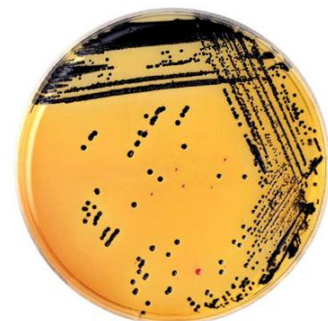
Composició

Reactius	Quantitat
Extracte de carn bovina	5,0 g
Digerit pancreàtic de caseïna	2,5g
Digerit pèptid de teixit animal	2,5g
Lactosa	10,0g
Sals biliars	8,5g
Citrat sòdic	8,5g
Tiosulfat sòdic	8,5g
Citrat fèrric	1,0g
Vermell neutre	0,025g
Agar	13,5g
Verd brillant	0,330mg
Aigua destil·lada	1000ml

El pH del medi és $7,2 \pm 0,2$

Preparació

Mesclar la quantitat exacta esmentada en el quadre anterior de cada reactiu amb 1L d'aigua destil·lada en un vas de precipitats. Escalfar el medi fins a que aquest arribi a l'ebullició. Posteriorment refredar a una temperatura entre 45-50°C al bany maria i finalment abocar el medi en plaques de petri estèrils. El medi no es pot esterilitzar en els autoclaus com s'acostuma a fer amb la majoria de medis abans de ser abocats en les plaques. El color del medi és un vermell ataronjat. Les plaques de petri s'han d'emmagatzemar a una temperatura entre 8-15°C.



Fonaments del medi de cultiu

Aquest medi és selectiu en funció del nivell d'inhibició¹⁰ dels bacteris gram positius.

La lactosa que conté el medi permetrà diferenciar els organismes entèrics dels que no ho són, ja que els que sí que ho són fermenten la lactosa i, com a conseqüència, al produir àcid làctic les colònies que es formen són de color vermell, en canvi els que no són entèrics, al no fermentar-la, formen colònies transparents.

A més, la presència de tiosulfat de sodi i de citrat fèrric permet detectar la producció d'H₂S mitjançant l'aparició de punts negres en el centre de les colònies d'aquells bacteris que en produeixen. Aquest medi s'utilitza com un aïllament primari del bacteri Salmonel·la i, per tant, és millor sembrar la mostra en altres medis de cultiu per tal de confirmar els resultats.



Escherichia coli

Salmonella

Shigella

¹⁰ **Inhibidors:** sals biliars, verd brillant i citrats.

8.2 Elisa- Vidas

Aquesta és una de les tècniques més ràpides per a la detecció de Salmonel·la. Inclou 3 passos:

- 1) S'introdueix en un vas de precipitats 225 ml d'aigua de peptona juntament amb 25 gr o 25 ml de la mostra a analitzar i es deixa incubar de 18-24h a una temperatura de $41,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$.
- 2) Posteriorment s'agafa 0,1 ml del vas de precipitats i s' introdueix en una proveta que conté 10 ml de *salmonel·la xpress 2 broth*, un producte ja preparat per a dur a terme aquesta tècnica. Es deixa incubar de 6-24 h a una temperatura de $41,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$.
- 3) Després es van repartint 0,5 ml de la mostra de la proveta uns quants eppendorfs. Aquests es col·loquen en una màquina que s'anomena VIDAS Heat & Go durant 15 ± 1 min. Transcorregut aquest temps es treuen els eppendorfs de la màquina i es deixen refredar durant aproximadament 10 min i, amb un espectròmetre es mesura la quantitat de bacteri present a les mostres. Si aquesta quantitat és inferior a $0,23\text{ }\mu\text{m}$ (micromols) podem dir que la mostra és negativa i si és superior, posteriorment s'han de dur a terme proves bioquímiques, com per exemple un API, per tal de confirmar l'existència de Salmonel·la en la mostra i descartar que puguin ser altres tipus de microorganismes. Durant tot aquest últim pas la temperatura ha de romandre entre els $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Els beneficis d'aquesta tècnica són els següents:

- És ràpida
- És senzilla: només té 3 passos
- És flexible: té uns rangs d'incubació molt amplis.

8.3 PCR

Aquesta tècnica té molts usos en el camp científic com, per exemple, en medicina forense, per tal de identificar persones a partir de mostres de sang, cabell, pell, semen, etc; en estudis d'evolució per deduir el parentiu entre diferents espècies, per estudiar malalties genètiques, etc. També s'utilitza en la detecció de Salmonel·la. Es basa en la reacció en cadena de la polimerasa en produir-se la duplicació de l'ADN.

Es segueixen els següents passos:

- 1) Primerament s'introdueix en eppendorfs l'enzim DNA-polimerasa, un medi adequat per l'ADN del que volem obtenir còpies, els 4 tipus de desoxiribonucleòtids trifosfats i dos extrems de l'ADN diana que actuaran com a encebadors en el moment de produir-se la duplicació de l'ADN. Prèviament s'ha d'haver extret l'ADN de la mostra a analitzar.

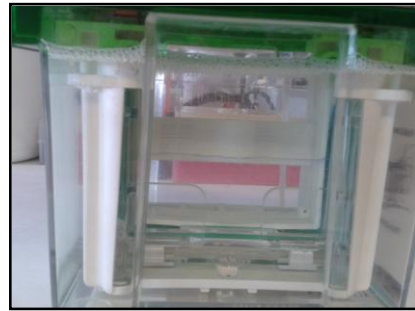
- 2) Un cop tenim tots aquests productes en els eppendorfs, s'introdueixen en un termociclador, un aparell que duplica milions de vegades la seqüència d'ADN que s'ha introduït inicialment. El termociclador consta d'un cicle que es va repetint contínuament: el primer consisteix a escalfar la mostra fins



aproximadament uns 80 °C, temperatura a la que es produeix la separació de la doble hèlix de l'ADN per desnaturalització, a mesura que es va produint la separació de la doble hèlix, els encebadors es van unint a cadascuna de les cadenes separades per a que l'enzim ADN-polimerasa pugui anar sintetitzant les noves cadenes complementàries a l'original. Aquest cicle es va repetint successivament. El número de cicles depèn de la quantitat d'ADN que s'introdueix inicialment als eppendorfs. Si la mostra és petita, aleshores, serà necessari que es produeixin més cicles per tal d'obtenir molta quantitat d'ADN en acabar tot el procés, però si la mostra és gran no en caldrà tants.

3) Finalment, un cop acabat el procés, es duu a terme una electroforesi.

S'introdueix una petita quantitat de les mostres obtingudes del termociclador en els pous d'una gelatina d'agar, prèviament introduïts en un recipient amb buffer. Finalment s'aplica una càrrega elèctrica per a



que l'ADN migri del pol positiu cap al negatiu i es desplaci pel gel. D'aquesta manera l'ADN de poc pes molecular migrarà molt lluny de l'origen i el de més pes, no es mourà tant.

4) Per analitzar els resultats comparem els coneixements que prèviament tenim amb els obtinguts a l'electroforesi. Si dona positiu a Salmonel·la posteriorment durem a terme les proves bioquímiques de confirmació i la serotipació.

8.4 Micro Q-Fast

Aquesta tècnica és de les més noves que han sorgit. Es duu a terme en 4 passos:

1) Extracció de l'ADN dels microorganismes que continguin les mostres. Aquest pas es duu a terme mitjançant uns kits que ja venen preparats per a realitzar l'extracció mitjançant uns reactius.

2) Realització d'una PCR, per tal d'amplificar els segments d'ADN. El protocol a seguir en aquest pas s'ha explicat en l'apartat 8.3, l'únic que varia d'una PCR a una altra és la quantitat de cicles que es duen a terme, la temperatura a la qual es fan i la durada de cada cicle.

3) Introducció de les mostres amplificades juntament amb un anticòs en una SDS (Applied Biosystems Sequence Detection System). Aquesta màquina el que fa és aplicar una certa càrrega elèctrica a la mostra per afavorir una reacció antígen- anticòs. Segons el voltatge després, en aquesta reacció, podem determinar si la mostra està contaminada pel bacteri Salmonel·la o no. Si la mostra desprèn un alt voltatge, significarà que l'anticòs que hem introduït s'haurà unit fortament amb l'antigen específic que contenen els bacteris Salmonel·la, i per tant que la mostra conté aquest bacteri. En canvi, si el voltatge després és baix significarà que els microorganismes de la mostra no contenen els antígens en la seva membrana per a que es pugui produir i la reacció i, com a conseqüència, podem concloure que la mostra no està contaminada per Salmonel·la.

Tot i això, com a la resta de tècniques, també es duen a terme d'altres proves bioquímiques per tal de confirmar la presència o no del bacteri en les mostres.

Els inconvenients d'aquestes 3 últimes tècniques són que les autoritats sanitàries encara no les han autoritzat com a oficials, ja que no se sap ben bé els falsos negatius i els falsos positius que poden donar i no la consideren una tècnica 100% eficient, en aquests moments, per tal de garantir la màxima seguretat alimentària a la població.

9. Control de l'ús de medicaments veterinaris antimicrobians

Per evitar que la presència de medicaments veterinaris antimicrobians en les mostres estudiades puguin afectar al protocol de detecció de Salmonel·la i alterar-ne el resultat, es fan una sèrie de controls a nivell de laboratori o mitjançant documents de registre de les explotacions de pollastres.

El control laboratorial es basa en un assaig per a la investigació de l'efecte inhibidor del creixement bacterià en les mostres d'acord amb el Real Decret 1749/1998. En cas de que es detecti algun medicament a les mostres s'haurà de repetir l'assaig fins que no es trobi cap efecte inhibidor del creixement bacterià o en alguns casos es pot decidir enviar la bandada a sacrifici o destrucció.

Si es creu convenient, es podrà realitzar un mostreig de l'aigua i el pinso del qual s'alimenta la bandada positiva al control de l'ús d'antimicrobians per tal de detectar la quantitat de Salmonel·la present.

L'ús de medicaments veterinaris antimicrobians per amagar la presència de Salmonel·la està prohibit. En cas de que el responsable tingui que subministrar algun tipus de medicament antimicrobià per algun problema de salut dels pollastres ho ha de comunicar als laboratoris encarregats de dur a terme els controls.

10. Mesures en cas de detectar alguns dels serotipus objecte d'aquest programa a les mostres estudiades

En el cas de que es detecti a les mostres algun dels serotipus objecte d'aquest programa (*S. enteritidis* o *S. typhimurium*, incloent les soques monofàsiques amb la fórmula antígena 1,4, [5],12:i-) les autoritats en sanitat animal prendran les mesures següents:

- 1- Es realitzarà una investigació epidemiològica a la bandada de pollastres de la qual procedeixi la mostra estudiada per tal de detectar la causa de la infecció. A més, també es podrà fer una presa de mostres dels aliments o de l'aigua que emprin en l'explotació.
- 2- Es comprovarà si es duen a terme les mesures de bioseguretat i es realitzen els autocontrols de les bandades.
- 3- Un cop surtin tots els pollastres de l'explotació es realitzarà una neteja, desinfecció, desinsectació i desratització per tal d'evitar que les bandades que posteriorment ocupin aquelles instal·lacions es contaminin. Abans de introduir nous pollastres a la nau, es realitzarà una presa de mostres ambientals (un mínim de 10 mostres) a fi de verificar l'eficàcia de les tasques de neteja i l'absència de Salmonel·la.

Les autoritats seran qui autoritzaran l'entrada de nous animals a la nau en el cas de que cap de les mostres donin positiu a Salmonel·la.

- 4- No es pot introduir nous animals en l'explotació fins transcorreguts almenys 12 dies posteriors a la neteja. En el cas de que es tinguin els resultats abans del previst i aquests demostrin l'eficàcia de la neteja, l'espera es podrà reduir a 7 dies com a màxim.
- 5- Cadascuna de les dates en que es duguin a terme els processos que comporta aquest protocol (sortida de les naus, desinfecció i neteja de les instal·lacions, etc) hauran de quedar enregistrades i s'hauran de comunicar a les autoritats.

11. Disseny experimental

11.1 Problema

Actualment existeixen 4 tècniques per a la detecció de Salmonel·la en pollastres. Una de les tècniques, la ISO 6579 és la tècnica oficial, i és a partir d'aquesta que, recentment, han sorgit les altres: ELISA-VIDAS, PCR i MicroSEQ que intenten ser més eficients que la primera. S'espera que en un futur molt proper, aquestes tres últimes tècniques passin a ser oficials. Els objectius d'aquest treball es centraran en intentar resoldre les següents qüestions:

- 1 - Quina de les 4 tècniques per a la detecció de Salmonel·la és més eficaç, tenint en compte aspectes com els econòmics, mediambientals, de generació de residus, rapidesa, etc?**
- 2 - Realment són més eficients que la primera les 3 noves tècniques sorgides més recentment?**

11.2 Hipòtesis

-La tècnica ELISA-VIDAS és la més cara ja que una mostra positiva comporta moltes més despeses econòmiques que la resta de les tècniques.

-La tècnica ISO 6579 és la més econòmica ja que és la que menys cost té una mostra que resulta ser negativa.

-La tècnica ISO 6579 és la que més contamina ja que és la més antiga i anys enrere no es tenia tant en compte els aspectes mediambientals

-La tècnica PCR és la que suposa més cost ja que és de les que necessiten un procés més llarg i dura més dies.

11.3 Desenvolupament del problema

El cost i la durada aproximada de cada tècnica són els següents:

	Elisa-VIDAS	PCR	Micro Q-Fast	ISO-6579
Euros/mostra negativa	9,6	8,8	8,6	2
Euros/mostra positiva	58,1	57,3	56,5	51,2
Dies anàlisi mostra negativa	1	1	1	3
Dies anàlisi mostra positiva	2	3	2	3

El percentatge de falsos positius i de falsos negatius que s'obtenen en cada tècnica no se sap. No hi ha cap estudi fet ni cap dada que ho indiqui. De manera que, per evitar la sortida al mercat dels pollastres que donin falsos negatius, és necessari la realització de diverses proves bioquímiques per la confirmació definitiva de l'absència del bacteri Salmonel·la.

Els controls oficials es duen a terme dins les 3 últimes setmanes anteriors a la sortida dels pollastres cap a l'escorxador, per tant, la durada de cada tècnica no condiona de cap manera al ramader. D'altra banda el temps si que influeix en que, com més aviat dins d'aquestes setmanes es fa el control oficial, si dona positiu a Salmonel·la, el ramader tindrà més temps per trobar un escorxador que li accepti els pollastres, que dugui a terme tot el procés per eliminar qualsevol resta del bacteri i podrà pactar un preu considerable que surti rentable als dos.

Pel que fa al tema mediambiental, totes les tècniques generen més o menys la mateixa quantitat de residus excepte una, la ISO-6579, que en genera més degut a la gran quantitat de plaques de petri que s'empren en el protocol. La resta no en generen tants ja que s'utilitzen recipients més petits com poden ser els eppendorfs, provetes, etc.

11.4 Conclusions

Després d'haver realitzat aquest treball, he pogut comprovar que:

-El control de la Salmonel·la en els aliments és un problema molt complex que requereix una estratègia global a tota la cadena alimentària, des del moment de la producció d'aquests fins a que arriben a la taula de les cases dels consumidors.

-Aquest treball a més, m'ha permès aproximar-me al món de la microbiologia, conèixer uns microorganismes i unes tècniques microbiològiques de les que no n'havia sentit parlar mai, tampoc havia vist en directe l'aspecte que tenen les colònies dels bacteris quan creixen en diferents medis de cultiu. Tot, en conjunt, m'ha semblat força interessant.

Pel que fa al mètode científic aplicat, podem extreure les següents conclusions:

-La durada de les tècniques per a la detecció de Salmonel·la en *broilers* no afecta de cap manera al ramader, ja que els controls oficials que s'han de fer obligatòriament abans de que els animals surtin de la granja per anar a l'escorxador, es fan dins les tres últimes setmanes abans del sacrifici dels *broilers*, per tant que duri 1 o 2 dies al granger no li afecta de cap manera. D'altra banda, si coneguéssim el percentatge de falsos positius i de falsos negatius de cada tècnica, els resultats, aleshores, haguessin variat ja que les proves que tinguessin menys falsos positius o falsos negatius serien les més eficaces. Per tant, es pot concloure que, pel que fa a l'aspecte econòmic, la tècnica més eficaç és la ISO-6579.

-Pel que fa a l'aspecte mediambiental, les que generen menys residus són les altres tres tècniques sorgides recentment: la micro q-fast, l' ELISA-VIDAS i la PCR. Aquestes es duen a terme en recipients molt petits com els eppendorfs i, a l'hora d'eliminar aquests recipients, es contamina molt menys que quan s'han d'eliminar totes les plaques de petri que s'empren en la ISO-6579.

-Per tant les tres primeres hipòtesis plantejades abans de resoldre el problema són certes i la quarta està en dubte ja que segons la informació que he rebut sobre les tècniques, la durada de cada tècnica no afecta al cost final, però aquesta conclusió l'he extret malgrat que no es disposa de cap dada del percentatge de falsos positius i falsos negatius de cada tècnica. Si coneguéssim aquestes dades els resultats variarien.

12. Evolució dels programes nacionals de control de Salmonel·la en broilers

Dades dels autocontrols realitzats l'any 2012

Especie: Pollos de carne Enfermedad: Salmonellosis Zoonótica Fecha Muestreo desde 01/01/2012 Fecha Muestreo hasta 31/12/2012

COMUNIDAD AUTÓNOMA	Nº EXPLOTACIONES MUESTREADAS	Nº MANADAS MUESTREADAS	Nº MUESTRAS ANALIZADAS		Nº MUESTRAS POSITIVAS SALMONELLA SPP		Nº MUESTRAS POSITIVAS SALMONELAS ZOOINÓTICAS(**)		PREVALENCIA / EXPLOTACIÓN				PREVALENCIA / MANADA			
			heces/calzas (*)	Distintas a heces/calzas	heces/calzas (*)	Distintas a heces/calzas	heces/calzas (*)	Distintas a heces/calzas	SALMONELLA		ZOOINÓTICAS (**)		SALMONELLA		ZOOINÓTICAS (**)	
									Num.	%	Num.	%	Num.	%	Num.	%
ANDALUCIA	644	5174	5675	0	305	0	1	0	164	25,46	1	0,15	286	5,52	1	0,01
ARAGON	339	2630	2880	0	36	0	2	0	36	10,61	2	0,58	36	1,36	2	0,07
ASTURIAS	4	16	16	0	0	0	0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
BALEARES	15	197	236	0	4	0	0	0	2	13,33	0	0,00	3	1,52	0	0,00
CANARIAS	20	278	510	0	57	0	0	0	13	65,00	0	0,00	50	17,96	0	0,00
CANTABRIA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
CASTILLA-LA MANCHA	338	2866	3166	0	29	0	4	0	25	7,39	4	1,18	29	1,01	4	0,13
CASTILLA Y LEON	356	3778	3910	0	27	0	1	0	20	5,61	1	0,28	27	0,71	1	0,02
CATALUÑA	691	3292	3644	0	96	0	6	0	69	9,98	5	0,72	89	2,70	6	0,18
EXTREMADURA	253	1820	1891	0	17	0	2	0	11	4,34	1	0,39	17	0,93	0	0,00
GALICIA	696	3878	4301	0	13	0	3	0	12	1,72	3	0,43	13	0,33	3	0,07
MADRID	3	37	37	0	0	0	0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
MURCIA	180	1058	1252	0	19	0	1	0	14	7,77	1	0,55	18	1,70	0	0,00
NAVARRA	83	816	835	0	6	0	0	0	5	6,02	0	0,00	6	0,73	0	0,00
PAIS VASCO	36	57	59	0	2	0	2	0	2	5,55	2	5,55	2	3,50	0	0,00
RIOJA (LA)	51	576	587	0	10	0	0	0	4	7,84	0	0,00	10	1,73	0	0,00
VALENCIA	449	3075	3718	0	72	0	3	0	52	11,58	3	0,66	71	2,30	3	0,09
Total	4158	29548	32717	0	693	0	25	0	429	10,31	23	0,55	657	2,22	20	0,06

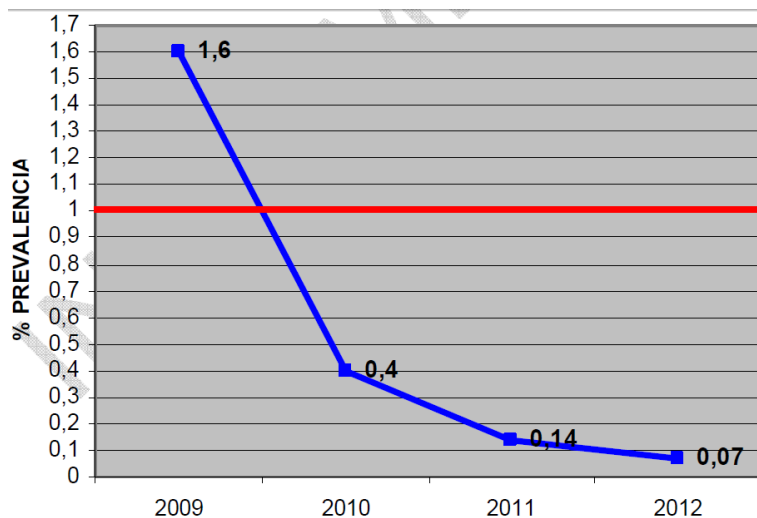
(*) Incluye Calzas, Heces frescas (cinta o suelo), Visceras, Meconio y Fondos de caja

(**) Cálculo Prevalencia: Sólo se toman las muestras de control rutinario y de confirmación. Prevalencia/Manada Zoonóticas: Se toma el resultado del último muestreo. Serotipos de Salmonella : Enteritidis + Typhimurium + 1,4,[5],12:i:-

En todas las columnas se consideran siempre las muestras de control rutinario y de confirmación. Sólo se toman las manadas de Producción

En total l'any 2012 es van mostrejar 4158 explotacions en tot el territori espanyol. En aquesta taula es pot observar que la comunitat autònoma que més prevalença de Salmonel·la té en les seves explotacions és Catalunya, seguida de Castella-La Manxa i València. En canvi les comunitats autònomes en les que gairebé la prevalença de Salmonel·la en les seves explotacions és nul·la són: Madrid, Cantabria i Astúries. D'altra banda Galícia és la comunitat amb el major número de explotacions mostrejades, concretament 696 (16'74 % respecte del total), seguida de Catalunya amb 691 (16,6 %) i Andalusia amb 644 (15,48 %). Es pot observar també que la prevalença total ha estat d'un 0,06 %.

Prevalença de Salmonel·la des del 2009, any en què es van implantar els PNCS, fins el 2012 tenint en compte els autocontrols.



En aquest gràfic es pot observar com durant l'any 2010 es va produir una davallada en el tant per cent de la prevalença de Salmonel·la. Va passar del 1,6 % en l'any 2009 fins al 0,4 % en el 2010. També es pot observar que any rere any va disminuint i, per tant, podem dir que els PNCS són efectius i que milloren cada any.

Dades dels controls oficials realitzats l'any 2012

Especie: Pollos de carne Enfermedad: Salmonelosis Zoonótica Fecha Muestreo desde: 01/01/2012 Fecha Muestreo hasta: 31/12/2012

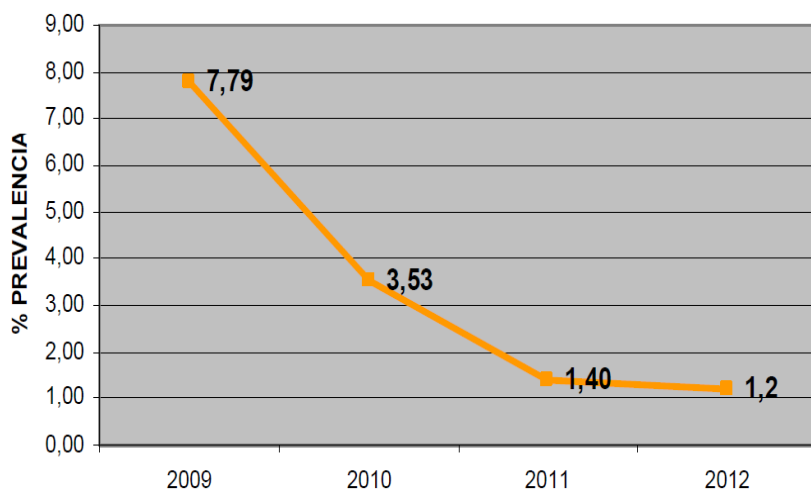
COMUNIDAD AUTÓNOMA	Nº EXPLOTACIONES MUESTREADAS	Nº MANADAS MUESTREADAS	Nº MUESTRAS ANALIZADAS		Nº MUESTRAS POSITIVAS SALMONELLA SPP		Nº MUESTRAS POSITIVAS SALMONELAS ZOOINÓTICAS (**)		PREVALENCIA / EXPLOTACIÓN				PREVALENCIA / MANADA			
			heces/calzas (*)	Distinta a heces/calzas	heces/calzas (*)	Distinta a heces/calzas	heces/calzas (*)	Distinta a heces/calzas	SALMONELLA		ZOOINÓTICAS (**)		SALMONELLA		ZOOINÓTICAS (**)	
									Num.	%	Num.	%	Num.	%	Num.	%
ANDALUCIA	74	74	75	0	9	0	0	0	9	12,16	0	0,00	9	12,16	0	0,00
ARAGON	70	72	72	0	5	0	0	0	5	7,14	0	0,00	5	6,94	0	0,00
ASTURIAS	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
BALEARES	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
CANARIAS	3	3	5	0	0	0	0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
CANTABRIA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
CASTILLA-LA MANCHA	36	36	36	0	5	0	3	0	5	13,88	3	8,33	5	13,88	3	8,33
CASTILLA Y LEON	70	73	73	0	3	0	0	0	3	4,28	0	0,00	3	4,10	0	0,00
CATALUÑA	83	91	92	0	7	0	0	0	6	7,22	0	0,00	6	6,59	0	0,00
EXTREMADURA	25	43	43	0	3	0	2	0	2	8,00	1	4,00	3	6,97	2	4,65
GALICIA	75	88	88	0	2	0	1	0	2	2,66	1	1,33	2	2,27	1	1,13
MADRID	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
MURCIA	31	31	31	0	2	0	1	0	2	6,45	1	3,22	2	6,45	1	3,22
NAVARRA	8	8	8	0	0	0	0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
PAIS VASCO	2	5	5	0	0	0	0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
RIOJA (LA)	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
VALENCIA	45	48	48	0	4	0	0	0	4	8,88	0	0,00	4	8,33	0	0,00
Total	532	582	586	0	40	0	7	0	38	7,14	6	1,12	38	6,70	7	1,20

(*) Incluye Calzas, Heces frescas (cinta o curio), Visceras, Meconio y Fondos de caja

(**) Cálculo Prevalencia: sólo se toman las muestras de control rutinario y confirmación. Prevalencia/Manada Zoonóticas: Se toma el resultado del último muestreo. Serotipos de Salmonella: Enteritidis + Typhimurium + 1,4,[8],12:1:-

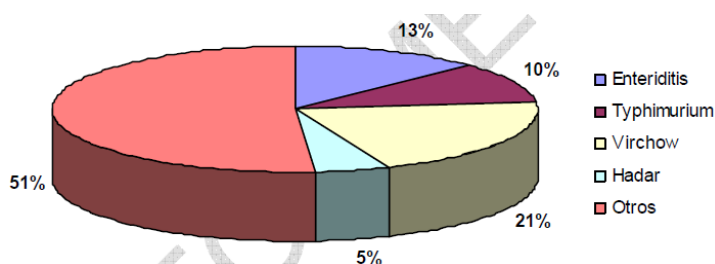
En aquesta taula podem observar que en els controls oficials realitzats en tot el territori espanyol es van mostrejar en total 532 manades. Les comunitats autònomes on es van realitzar més controls són: Catalunya, amb 83 explotacions (15,6 % del total), Galícia, amb 75 explotacions (14,1 %), Andalusia, amb 74 explotacions (13,9 %) i Aragó, amb 70 explotacions (13,16 %). Les comunitats autònomes amb una major prevalença de Salmonel·la són: Andalusia, seguida de Catalunya i Aragó. En canvi, les comunitats amb una prevalença pràcticament nul·la són: La Rioja, País Basc, Navarra, Madrid, Astúries, Balears, Canàries i Cantabria. La Prevalença de Salmonel·la total és d'un 1,2 %. Es pot comprovar que hi ha una gran diferència respecte els autocontrols en els que el tant per cent total havia estat del 0,06 i els controls oficials.

Prevalença de Salmonel·la des del 2009, any en què es van implantar els PNCS, fins el 2012 tenint en compte els controls oficials.

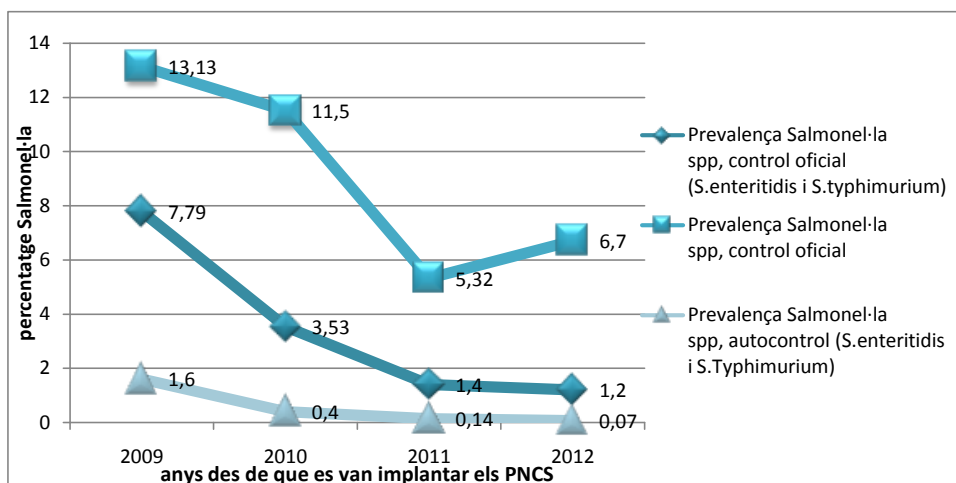


En aquest gràfic es pot observar com durant l'any 2010 es va produir una davallada molt gran en el tant per cent de la prevalença de Salmonel·la ja que els valors van passar a ser del 7,79 % l'any 2009 al 3,53 % l'any 2010. També es pot veure que cada any el percentatge de prevalença és bastant més gran en els controls oficials que en els autocontrols.

Distribució dels serotipus de Salmonel·la en broilers obtinguts l'any 2012



En aquest diagrama de sectors, podem observar que el serotipus que es troba menys freqüentment en broilers és l'hadar. En canvi, els que més es troben són els serotipus virchow, typhimurium i enteritidis. Encara que el serotipus virchow sigui el que més es troba, en els PNCS se centren en els serotipus typhimurium i enteritidis ja que són els que estan associats més freqüentment a malalties humanes.



Prevalença de Salmonel·la des del 2009, any en què es van implantar els PNCS, fins al 2012.

En aquest gràfic es pot observar com durant l'any 2010 es va produir una davallada en el tant per cent de la prevalença de Salmonel·la tant pel que fa als controls oficials com en els autocontrols. Si tenim en compte les dades obtingudes, al llarg dels diferents anys, en els controls oficials la prevalença de Salmonel·la va passar del 7,79 % que estava en l'any 2009 al 3,53 % l'any 2010. Si tenim en compte les dades obtingudes en els autocontrols es pot observar que es va produir una davallada en el tant per cent de la prevalença de Salmonel·la passant de l' 1,6 % l'any 2009 fins al 0,4 % al 2010.

També podem observar una gran diferència entre els controls oficials i els autocontrols. En els controls oficials, el percentatge de prevalença, cada any és bastant més gran que l'obtingut en els autocontrols. D'altra banda podem dir que dins dels controls oficials, els serotipus objecte dels programes de control (S.E i S.T) representen un alt percentatge del total any rere any. Finalment, podem concloure que cada any la prevalença de Salmonel·la va disminuint i, per tant, podem dir que els PNCS són efectius i cada any milloren.

13. Laboratoris Mevet

Els MEVET són uns laboratoris veterinaris que pertanyen al grup Vall Companys i estan situats al polígon industrial El Segre Parc, 409. En aquests laboratoris bàsicament es dissenyen i es desenvolupen els medicaments necessaris per al grup, fundat l'any 1922. L'experiència adquirida al llarg de tots aquests anys garanteix la qualitat, la seguretat i l'eficàcia de l'empresa.

Aquesta empresa disposa de laboratoris d'anàlisis microbiològiques i fisicoquímiques acreditades per l' Entitat Nacional de Acreditació.

La política del grup Vall Companys, inclou des de la producció de pinso per a l'autoconsum de les seves explotacions fins a la investigació i el control de tots els processos i de la matèria primera. Per aquest motiu, al desenvolupar tot el procés, aquest grup pot garantir una qualitat homogènia en tots els seus productes. És un dels grups pioners en seguretat alimentària.



14. Agraïments

Abans de donar per finalitzat aquest treball voldria donar les gràcies a totes les persones que m'han ajudat en tot el seu procés d'elaboració. En primer lloc, agrair a la professora Montserrat Ràfales, la meva tutora del treball de recerca, tot el suport, la paciència i l'ajut que m'ha donat, tant en l'àmbit estudiantil i del desenvolupament del treball de recerca com també en l'àmbit personal. En segon lloc vull agrair a la professora Leonor Argilés l'ajuda en l'elecció del tema i el fet d'haver-me posat en contacte amb les Sres. Pilar Burguès i Blanca González que em van obrir les portes dels laboratoris de l'empresa MEVET, i m'han dedicat tota l'atenció que els ha estat possible durant el transcurs del treball i m'han resolt molts dels dubtes que se m'han presentat. A elles dues també m'agradaria agrair-los-hi tota l'ajuda. També vull donar les gràcies al professor Robert Sirat que m'ha ajudat a fer el tractament matemàtic amb l'objectiu d'establir la comparativa econòmica de les tècniques de la detecció de Salmonel·la. Finalment, agrair a tots els educadors de la Casa Don Bosco el suport que m'han donat en el dia a dia, la disponibilitat que han tingut per ajudar-me i els ànims que m'han donat sobretot en aquells moments que més ho he necessitat.

Moltes gràcies a tots de tot cor!

15. Bibliografia

- http://europa.eu/legislation_summaries/other/l32041_es.htm (30-7-13)
- http://ec.europa.eu/dgs/health_consumer/library/pub/pub06_es.pdf (30-07-13)
- <http://publicacions.iec.cat/repository/pdf/00000004/00000074.pdf> (1-08-13)
- <http://ca.wikipedia.org/wiki/Salmonel%C2%B7la> (6-08-2013)
- <http://ca.wikipedia.org/wiki/Zoonosi> (6-08-2013)
- <http://saludinfantil.about.com/od/Malestar/a/Qu-E-Es-La-Salmonella.htm> (6-08-2013)
- <http://www.cdc.gov/spanish/especialesCDC/SalmonellaPollos/> (6-08-2013)
- <http://salmonelosis.net/> (8-08-2013)
- <http://www.analizacalidad.com/docftp/fi1121casalmo.htm> (8-08-2013)
- http://www.aesan.msc.es/AESAN/docs/docs/cadena_alimentaria/gestion_riesgos_biologicos/PROPOLLO.pdf (8-08-2013)
- <http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/es/dir3669/doc35006.html> (8-08-2013)
- <http://www.colvema.org/PDF/Salmonelosis.pdf> (8-08-2013)
- <http://www.avideter.com/ftp/articles/A2231211.pdf> (8-08-2013)
- <http://www.agrodigital.com/PIArtStd.asp?CodArt=90167> (8-08-2013)
- <http://ca.wikipedia.org/wiki/Serotipus> (9-08-2013)
- <http://ca.wikipedia.org/wiki/Epidemiologia> (9-08-2013)
- <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/3936/gaj1de1.pdf;jsessionid=15599CDC318EFF6A03AC9F4D825651BF.tdx2?sequence=1> (9-08-2013)
- http://ca.wikipedia.org/wiki/Artritis_reactiva (12-08-2013)
- <http://salmonella-spp.blogspot.com.es/> (14-08-2013)
- <http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/ca/dir1350/doc11304.html> (16-08-2013)
- <http://www.farmaceuticonline.com/ca/familia/541-salmonelosis?showall=1> (16-08-2013)
- <http://www.familiaforum.net/article.php?id=1397> (16-08-2013)

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:325:0001:0015:ES:PDF> (29-08-2013)

http://www.aesan.msssi.gob.es/AESAN/docs/docs/control_oficial/planes_nacionales_especificos/2012/informe_anual_2012.pdf (29-08-2013)

http://www.farmland-thegame.eu/tech_sheet_04_broilers_es.html (22-09-2013)

http://www.ruralcat.net/c/document_library/get_file?uuid=a51119ac-f777-4684-b784-5c379bc83f2b&groupId=10136 (06-10-2013)

http://www.ehowenespanol.com/salmonela-paratyphi-sobre_48699/ (09-10-2013)

http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_Agar_XLD.pdf (04-12-2013)

<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8779> (06-12-2013)

<http://www.condalab.com/es/productos/microbiologia/condaprod/microbiology/dehydrated-culture-media-for-microbiology//show/Categoria/1376/> (06-12-2013)

Roger y Stanier; Michael Doudoroff; Edward A. Adelberg. *Microbiologia* . Madrid: Aguilar, 1981. ISBN: 84-03-20256-3.

Jimeno, A; Ugedo, L. *Biologia 1r Batxillerat* .Barcelona: Santillana, 2008. ISBN: 978-84-7918-334-9

16. Annex

16.1 Full de la presa de mostres

IDENTIFICACIÓN DE LA MANADA		
REGA (ES+12 dígitos)	LETRA de la nave (mayúsculas)	FECHA ENTRADA AVES (mm /aaaa)

FECHA DE TOMA DE MUESTRAS (dd /mm /aaaa) _____

TIPO DE CONTROL (marcar con una X donde proceda)						
OFICIAL				AUTOCONTROL		
Rutina	Ambiental	Otros (pienso, agua, antimicrobiano...)	Confirmatorio	Rutina	Ambiental	Otros (pienso, agua, antimicrobiano...)

1. DATOS DE LA EXPLOTACIÓN

(Este apartado solo se cumplimentará la primera vez que se muestree la manada)

a) Identificación de la explotación (Código REGA) _____

b) Datos del titular _____

c) Población avícola
 Reproductoras ligeras Reproductoras pesadas Ponedoras Broilers Pavos engorde Pavos reproductores

d) Tipo de explotación
 Selección Multiplicación Recría Producción

e) Tipo de producción
 Ecológico Suelo Jaula Camperas Sistema Extensivo en Gallinero Gallinero con salida libre Granja al aire libre
 Granja de cría en libertad

f) Tamaño de la explotación

Nº de aves en la explotación en momento de muestreo	Capacidad máxima registrada autorizada de la explotación	Nº de naves de explotación (independientemente de si están llenas o vacías)	Nº de manadas en la explotación en momento de muestreo	Nº de ciclos de producción por nave y por año (aproximadamente)

2. DATOS DE LA MANADA MUESTREADA

Nº de animales en manada muestreada	Edad de las aves muestreadas	Fecha esperada de Despoblación o Sacrificio

Realiza sistema TODO DENTRO/ TODO FUERA Si No

3. DATOS DE LAS MUESTRAS

a) Tipo de espécimen
 Calzas Heces fresca Visceras Meconio Fondos de caja Polvo Toallitas Gamuza Pienso Agua

b) Número de muestras _____

c) Cantidad de muestra (peso o volumen por cada muestra) _____

4. ADMINISTRACIÓN DE MEDICAMENTOS

a) Vacunación frente a *Salmonella** Si No

1. Tipo de vacuna de *Salmonella*: Inactivada Viva

2. Nombre comercial _____

3. Número de dosis por ave y Edad (es) vacunación _____

b) Uso Antimicrobianos durante dos semanas previas Si No

1. Principio activo _____

2. Nombre comercial _____

3. Número de dosis _____

4. Fecha de aplicación _____

5. PIENSOS (opcional para autocontroles)

a) Procedencia del pienso utilizado: elaboración en propia explotación de la misma integradora de otra fábrica/explotación no relacionada de otro Estado miembro importado de país no UE desconocido

b) Utilización de aditivos: ácidos orgánicos probióticos Otros (especificar) _____

c) Utilización de tratamiento térmico: Si No

16.2 Imatges procediment tècnica ISO-6579



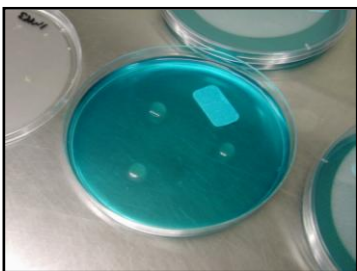
Recepció en el laboratori de les mostres procedents de les naus de pollastres.



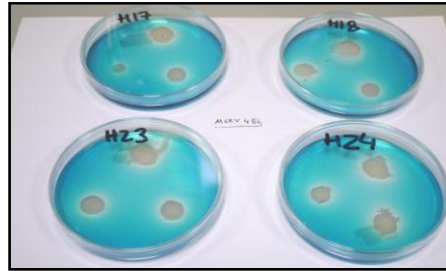
Col·locació de les mostres rebudes en recipients per a la posterior aplicació d'aigua de peptona.



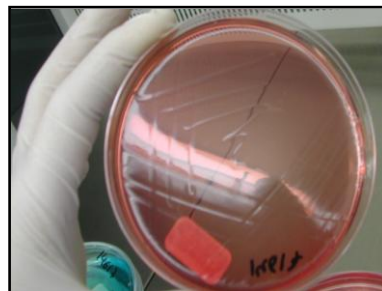
Dispensació d'aigua de peptona a les mostres per a la seva posterior incubació.



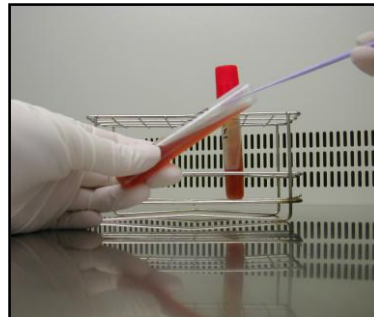
Sembra de la mostra en el medi de cultiu MSRV.



Presumpte positiu a Salmonel·la en medi de cultiu MSRV.



Sembra de la mostra en el medi de cultiu XLD.



Confirmació bioquímica (TSI)



Confirmació bioquímica (API) positiu a Salmonel·la.

Nom de la tutora del TdR : Montserrat Ràfales

Vistiplau (signatura)

Lleida, a de Gener de 20

Segell del centre