



TRABAJO FIN DE GRADO

**GRADO EN
VETERINARIA**

Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

Alumno: Andrés Álvarez Gil

Tutora: Sofía Ingesa Capaccioni

Curso académico: 2020 - 2021



Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

Agradecimientos

Son varias personas a las que le quiero agradecer su ayuda y apoyo recibido para realizar este trabajo.

En primer lugar, quiero agradecerle a mi tutora del trabajo final de grado la Dra. Sofía Ingesa Capaccioni toda su ayuda y esfuerzo sin la cual no hubiera sido posible la realización de este trabajo, especialmente en este periodo de elevada carga de trabajo para ella. Además, su apoyo e interés durante la realización de mis prácticas externas en la que siempre he contado con su ayuda y que me han permitido conocer mejor el sector al que quiero dedicarme.

En segundo lugar, a la empresa Ceva salud animal, por la oportunidad que me han brindado de poder ver la problemática de *Salmonella* spp. a nivel de campo durante estos dos últimos meses. En especial a María Aurora Colvee, Alberto Villa, Gorka Valdivia y Marta Yerpes, por ser siempre tan atentos, permitirme aprender con ellos durante todas las visitas realizadas y siempre brindarme su ayuda en todas mis dudas.

En tercer lugar, a mi familia, por todo su esfuerzo durante estos 5 años, tanto emocional como económico, de los cuales he tenido siempre su apoyo. Porque me han enseñado el valor del esfuerzo y gracias a ellos he podido lograr mis objetivos.

Por último, a mis compañeros y amigos, los cuales han hecho que cada momento de esta carrera haya valido la pena. Aquellos que siempre han estado ahí en los momentos más bonitos y más duros, y me han enseñado a trabajar en equipo. Nunca me cansaré de agradecer también su apoyo, ya que sin ellos este camino no habría sido lo mismo.

Gracias a todos ellos este trabajo ha sido posible, y cada página de este trabajo tiene un poquito de ellos.

Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

ÍNDICE

1.- RESUMEN	1
2.- ABSTRACT	2
3.- INTRODUCCIÓN	3
3.1. Características generales de <i>Salmonella</i> spp.....	3
a. Nomenclatura y taxonomía	3
b. Clínica en aves.....	4
c. Epidemiología	5
d. Patogenia	8
e. Mecanismos inmunológicos.....	9
3.2. Historia y antecedentes de <i>Salmonella</i> spp. en la Unión Europea.....	10
4.- OBJETIVOS.....	12
5.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
5.1. Estrategia de búsqueda de la información	13
5.2. Factores de inclusión y exclusión	13
5.2.1 Factores de inclusión	13
5.2.2 Factores de exclusión	14
5.3. Gestión de la información	14
6.- RESULTADOS	15
7.- DISCUSIÓN	23
7.1. Estrategias de control	25
a. Plan nacional de control en ponedoras y reproductoras	25
b. Herramientas para el control de <i>Salmonella</i> spp.:.....	27
i. Higiene y bioseguridad en las explotaciones	27
ii. Controles oficiales y autocontroles	30
iii. Vacunación.....	32
1. Historia y fundamentos.....	32
2. Plan vacunal en ponedoras y reproductoras.....	35
3. Perspectivas de cara al futuro en la vacunación	37
c. Otras herramientas de control	38
8.-CONCLUSIONES	42
9.-BIBLIOGRAFÍA	43
10.- ANEXOS.....	1

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Especies, subespecies, número de serovares de <i>Salmonella</i> y sus hábitats habituales.....	3
Tabla 2: Distribución estacional y de prevalencia de serovares de <i>Salmonella</i> obtenido a partir de productos de la avicultura (Zdragas et al., 2012).....	8
Tabla 3: Cronograma de aplicación del Reglamento (CE) N°2160/2003 para el control de determinados serovares de <i>Salmonella</i> en las poblaciones animales (Ministerio de agricultura, pesca y Alimentación)	11
Tabla 4: Palabras clave empleadas para la búsqueda de artículos.....	13
Tabla 5: Artículos seleccionados	15
Tabla 6: Positividad a <i>Salmonella</i> objeto de control de las manadas de aves investigadas en 2018, en España (Ministerio de agricultura pesca y alimentación, 2018, p. 159)	27
Tabla 7: Autocontroles en gallinas ponedoras (PNCS gallinas ponedoras 2021)	29
Tabla 8: Autocontroles en gallinas reproductoras (PNCS gallinas reproductoras 2021)	31
Tabla 9: Controles oficiales en gallinas ponedoras y reproductoras (elaboración propia, PNCS gallinas ponedoras y reproductoras 2021)	31
Tabla 10: Vacunas autorizadas en España en enero de 2021 (Web Ministerio de agricultura, pesca y alimentación).....	36
Tabla 11: Porcentajes de bacteriófagos frente a <i>Salmonella</i> aislados agrupados por serovares en cada tipo de producción (Sevilla-Navarro et al., 2020b). SEM: Standard Error of the Mean	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Porcentaje de serovares en muestras positivas a <i>Salmonella</i> spp. en gallinas ponedoras (PNCS 2021).....	7
Figura 2: Porcentaje de serovares en muestras positivas a <i>Salmonella</i> spp. en reproductoras (PNCS 2021).....	7
Figura 3 Número de artículos empleados por año (elaboración propia).....	22
Figura 4 Número de artículos publicados según el número de autores (elaboración propia). ..	22
Figura 5: Prevalencia de <i>Salmonella</i> objetivo de control en los diferentes tipos de producción avícola en la UE, 2007–2016 (European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).....	24
Figura 6: Prevalencia de <i>Salmonella</i> spp. en los diferentes tipos de producción avícola en la UE, 2007–2016 (European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).	25
Figura 7: Prevalencia de explotaciones de gallinas ponedoras con casos positivos a serovares objeto de control en España (PNCS ponedoras)	26
Figura 8: Prevalencia conjunta de serovares objeto de control en aves reproductoras de la especie <i>Gallus gallus</i> en España (PNCS reproductoras)	26
Figura 9: Porcentaje de fagos de <i>Salmonella</i> spp. frente a diferentes serovares según el tipo de producción (Sevilla-Navarro et al., 2020b).....	41
Figura 10: Diagrama de gestión de aves enviadas a matadero (PNCS gallinas ponedoras 2021) III	

Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

1.- RESUMEN

Salmonella spp. es una enterobacteria presente en gran cantidad de animales y con gran capacidad de resistencia en el ambiente. Esta bacteria tiene gran importancia en salud pública, siendo la segunda zoonosis con mayor frecuencia en la UE, solo por detrás de la campylobacteriosis. Históricamente, la mayoría de las salmonelosis han sido transmitidas a humanos por huevos y productos derivados de las aves, siendo este primero el responsable del 45% de los casos en humanos. Esto se debe a que los serovares más frecuentes en humanos, responsables del 73,3% de los casos, son los más prevalentes en gallinas ponedoras y reproductoras, como son *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Typhimurium* en su variante monofásica. Por todo esto, la UE lanzó en 2003 el Reglamento (CE) N.º 2160/2003 para el control de *Salmonella* spp., y a partir del cual todos los países elaboraron planes de control propios que marcaron los objetivos y las medidas legales a seguir en cada tipo de producción avícola. La aplicación de estos planes junto con las medidas de bioseguridad, limpieza y desinfección y controles oficiales y autocontroles, han conseguido alcanzar los objetivos marcados frente a determinados serovares de *Salmonella* spp. Todo esto acompañado de la vacunación, que ha cambiado y mejorado a lo largo de los años, y hoy se fundamenta como uno de los pilares en el control de este patógeno. Además, nuevas herramientas de control como los bacteriófagos parecen aportar buenos resultados en la desinfección de instalaciones.

Palabras clave: *Salmonella*, reproductoras, ponedoras, bioseguridad, vacunación, bacteriófagos.

2.- ABSTRACT

Salmonella is an enterobacterium present in a large number of animals with great resistance capacity in the environment. This bacterium is of great importance in public health, being the second most frequent zoonosis in the EU, only behind campylobacteriosis. Historically, most salmonellosis cases in human have been transmitted by eggs and bird-derived products, the former being responsible for 45% of cases in humans. This is due to the fact that the most frequent serotypes in humans, responsible for 73.3% of cases, are the most prevalent in laying and breeding hens, such as *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Typhimurium* in its monophasic variant. For all this, the EU launched Reg 2160/2003 for the control of *Salmonella* spp., and from which all countries developed their own control plans that set the objectives and the legal measures to be followed in each type of poultry production. The application of these plans together with the biosafety, cleaning and disinfection measures and official controls and self-controls have achieved the objectives set against certain *Salmonella* serotypes. All this accompanied by vaccination, which has changed and improved over the years and today is founded as one of the pillars of the control of this pathogen. In addition, new control tools such as bacteriophages seem to provide good results in the disinfection of facilities.

Key words: *Salmonella*, layer hens, breeders, biosecurity, vaccination, bacteriophages.

3.- INTRODUCCIÓN

3.1. Características generales de *Salmonella* spp.

a. Nomenclatura y taxonomía

Los microorganismos del género *Salmonella* son bacilos, Gram negativos, anaerobios e intracelulares facultativos, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*. Su tamaño oscila de 0,3 a 1 µm x 1,0 a 6,0 µm. Son móviles debido a la presencia de flagelos peritricos, a excepción de *S. Gallinarum* y *S. Pullorum* que no poseen capacidad de movimiento (Berchieri *et al.*, 2001). Se trata de una bacteria mesófila, con un rango de crecimiento y multiplicación óptimo entre 30 y 37°C, aunque sobrevive en un amplio rango de temperaturas, lo que hace que posea gran capacidad de supervivencia en el ambiente y sea difícil de eliminar en las explotaciones (Juneja *et al.*, 2007).

El género *Salmonella* está compuesto en la actualidad por 2 especies diferentes: *S. bongori* y *S. enterica*. Dentro de la especie *S. enterica* se distinguen 6 subespecies (Tabla 1): *S. enterica indica*, *S. enterica salamae*, *S. enterica arizonae*, *S. enterica diarizonae*, *S. enterica houtenae* y *S. enterica entérica*. A su vez, dentro de cada subespecie se encuentran distintos serovares o serotipos identificados en función de su respuesta serológica (Agbaje *et al.*, 2011). Dicha serotipificación se basa en el esquema de Kauffmann-White, que reconoce 46 antígenos O y 119 antígenos H, los cuales han permitido la caracterización de más de 2.500 serovares (Brenner *et al.*, 2000).

Tabla 1. Especies, subespecies, número de serovares de *Salmonella* y sus hábitats habituales

<i>Salmonella</i> species and subspecies	No. of serotypes within subspecies	Usual habitat
<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (I)	1,454	Warm-blooded animals
<i>S. enterica</i> subsp. <i>salamae</i> (II)	489	Cold-blooded animals and the environment ^b
<i>S. enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> (IIIa)	94	Cold-blooded animals and the environment
<i>S. enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb)	324	Cold-blooded animals and the environment
<i>S. enterica</i> subsp. <i>houtenae</i> (IV)	70	Cold-blooded animals and the environment
<i>S. enterica</i> subsp. <i>indica</i> (VI)	12	Cold-blooded animals and the environment
<i>S. bongori</i> (V)	20	Cold-blooded animals and the environment
Total	2,463	

La especie *S. enterica* incluye la gran mayoría de patógenos asociados a mamíferos y aves. La habilidad de los diferentes serovares de *Salmonella* spp. para sobrevivir y prosperar en los diferentes ambientes que colonizan en los hospedadores, depende de una gran variedad de factores, como son el ambiente (pH, temperatura, sitios de unión) y sistema inmune del hospedador, microorganismos concomitantes de la flora y los genes propios del patógeno (Foley *et al.*, 2013).

Se han identificado una gran variedad de serovares de *S. enterica enterica*, que se clasifican en función de la especificidad que poseen para colonizar al hospedador. Por un lado, se encuentran las *Salmonellas* no hospedador-específicas, que incluyen los serovares *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Hadar*, *S. Virchow*, *S. Newport* y *S. Heidelberg* entre otras. Se caracterizan por tener una gran habilidad para colonizar diferentes hospedadores, incluyendo el hombre, por lo que se asocian comúnmente con las infecciones en humanos donde suelen inducir una gastroenteritis autolimitante, aunque también pueden llegar a causar enfermedad sistémica. Por otro lado, existen otros serovares que tienen un limitado rango de hospedadores, denominados hospedador-específicos y suelen causar en ellos una enfermedad más severa, tienen una patogenia completamente diferente, ya que estos serovares causan una infección sistémica más severa que puede acabar con la muerte del ave. Los principales serovares no hospedador-específicos son: *S. Typhi*, *S. Paratyphi*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, *S. Cholerasuis*, *S. Abortusovis* y *S. Dublín* (Foley *et al.*, 2013).

b. Clínica en aves

En cuanto a las salmonellas que afectan a las aves pueden clasificarse en dos grandes grupos, en función de los signos clínicos que presentan los animales.

- Salmonelosis tíficas: Causada por los serovares *S. Gallinarum* en aves adultas y *S. Pullorum* en aves menores de 3 semanas. El hospedador definitivo de estos serovares son las aves, y en estas causa la patología, normalmente relacionada con cuadros septicémicos. Causan elevada morbilidad y mortalidad (hasta del 25 al 30%). En la actualidad se describen muy pocos casos en Europa, la vacunación y otras herramientas de control aplicadas han sido muy efectivas frente a estos serovares. Estos serovares no son móviles ya que no poseen flagelos (Van Immerseel *et al.*, 2005).

- Salmonelosis paratíficas: Causada principalmente por los serovares *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* con su variante monofásica y *S. Infantis* en Europa, aunque existen muchos más serovares pertenecientes a este grupo. Poseen un mayor número de hospedadores (mamíferos y aves), lo que hace que sea más difícil reducirlos o eliminarlos completamente del ambiente. Aunque pueden causar brotes agudos en aves menores de 3 semanas de edad, normalmente se presenta con cuadros leves o subclínicos en aves adultas, como la disminución de la puesta en las dos semanas siguientes a la infección. Este grupo son las causantes de las salmonelosis en humanos transmitidas por las aves o sus productos, y causan cuadros de gastroenteritis, fiebre y dolor abdominal (Van Immerseel *et al.*, 2005).

c. Epidemiología

Salmonella spp. es una bacteria ubicua con gran capacidad de dispersión y de supervivencia en hospedadores e instalaciones. La transmisión de este agente entre las aves puede producirse por diferentes mecanismos.

Por un lado, la transmisión horizontal es la mayoritaria en aves adultas y la principal vía es la fecal-oral a través de heces u objetos contaminados, aunque también se ha descrito transmisión de vías respiratorias, mucosa conjuntival o heridas. Cada una de estas vías posee una dosis mínima infectante diferente (Kallapura *et al.*, 2014).

Por otro lado, la transmisión de *Salmonella* spp. también puede producirse vía vertical cuando la bacteria coloniza el tracto reproductivo de la gallina y penetra en el huevo antes de la formación de la cáscara, pudiendo dar lugar a pollitos portadores que excretarán la bacteria en las nacedoras (Kallapura *et al.*, 2014). No obstante, la contaminación del huevo también puede producirse tras su puesta, demostrándose que el mayor porcentaje de contaminación interna del huevo por *Salmonella* spp. se produce entre los 15 min y 3 horas tras su puesta a una temperatura aproximada de 25°C. Este proceso de penetración del patógeno se debe a que la cutícula todavía no se ha secado y el huevo al enfriarse produce un proceso de succión (Whiley & Ross, 2015). Además, se ha demostrado que la edad de la gallina y las características de la cáscara como el área, grosor y número de poros no influye de manera significativa en la penetración de la cáscara por *S. Enteritidis* (Whiley & Ross, 2015).

Además de estas vías de transmisión, existen numerosos vectores que se encuentran en el ambiente de las explotaciones y que son potenciales fuentes de transmisión de la bacteria a las aves. Entre los principales se encuentran: los roedores, escarabajos, ácaros y aves.

En primer lugar, se ha demostrado que los roedores actúan como reservorio de la bacteria ya que pueden adquirir *Salmonella* spp. a través diferentes fuentes, tanto a partir de las heces como de otros residuos de las gallinas infectadas o de aves silvestres (Gratz, 1994; Ducatelle & Van Immerseel, 2011). También se ha descrito la transmisión horizontal y vertical entre individuos infectados de la misma especie (Davies and Wray, 1995).

Además de los roedores, el control de los insectos es un punto de vital importancia. Los escarabajos de la especie *Alphitobius diaperinus* pueden actuar también como vectores mecánicos y reservorios de la bacteria (Crippen *et al.*, 2009). Debido a que tienden a esconderse en los paneles aislantes de la pared, grietas y otros sitios, suelen escapar frecuentemente de las aplicaciones de insecticidas, lo que favorece la persistencia de la bacteria en las naves (Salin *et al.*, 2000). Otro posible vector en la transmisión de *Salmonella* spp. es el ácaro *Dermanyssus gallinae*. Sin embargo, hasta la fecha solo se ha aislado el serovar *S. Gallinarum* tanto del interior como del exterior del ácaro (Valiente Moro *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2020). Por otro lado, las moscas (*Musca domestica*) son otro vector importante de *Salmonella* spp. en las explotaciones avícolas, ya que pueden transportar mecánicamente esta bacteria (Wales *et al.*, 2009). Las aves silvestres también pueden actuar como vectores y posibles reservorios de *Salmonella* spp. entre otros patógenos. Por último, el pienso o el agua contaminada también pueden representar una posible fuente de infección en los lotes de aves (Ducatelle & Van Immerseel, 2011).

En cuanto a la situación actual de *Salmonella* spp. se ha observado que los serovares predominantes en las aves varían según el tipo de producción. En los últimos datos publicados por el PNCS en 2021 que pertenecen a un estudio realizado en el año 2019, los dos serovares más prevalentes en ponedoras en España son *S. Enteritidis*, *S. Infantis*, quedando en un segundo plano serovares como *S. Typhimurium* y su variante monofásica (Figura 1). En el caso de las reproductoras los serovares con más prevalencia son *S. Toulon*, *S. Rissen* y *S. Enteritidis* (Figura 2). Estos datos demuestran una disminución en la prevalencia de los serovares *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* y su variante monofásica. Este hallazgo se debe principalmente al amplio uso de vacunas basadas en cepas de estos serovares, lo que ha provocado una disminución de su prevalencia. A pesar de existir una cierta inmunidad cruzada entre diferentes serovares (Van Immerseel *et al.*, 2005), la vacunación sistemática de ponedoras y reproductoras con vacunas de los serovares *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* ha tenido como consecuencia un descenso en la

prevalencia de dichos serovares, lo que ha permitido que otros menos frecuentes aumenten su prevalencia.

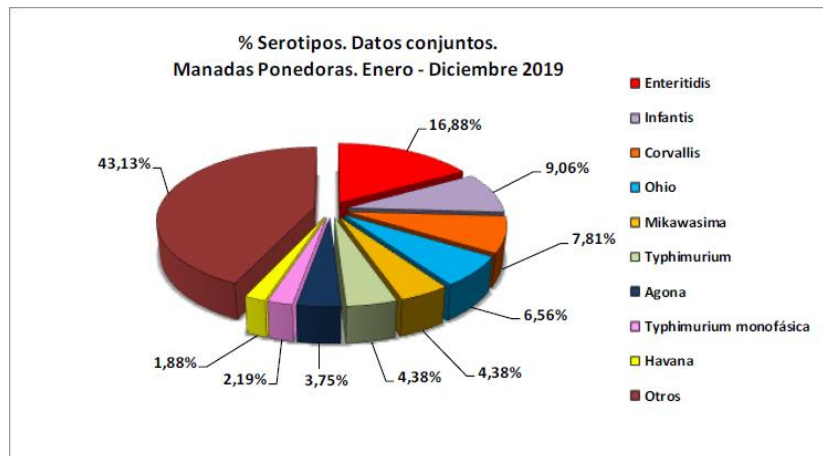


Figura 1. Porcentaje de serovares en muestras positivas a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras (PNCS 2021)

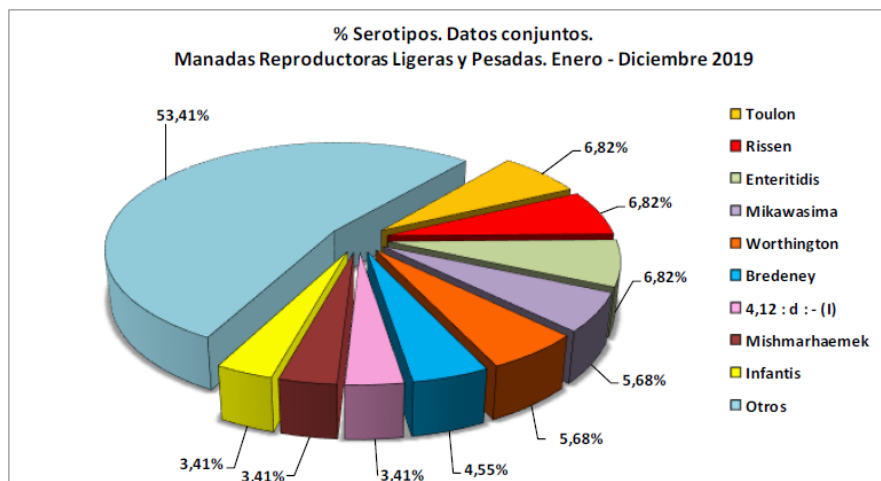


Figura 2. Porcentaje de serovares en muestras positivas a *Salmonella* spp. en reproductoras (PNCS 2021)

En cuanto a los casos positivos detectados en manadas de aves reproductoras y ponedoras, se ha observado en los últimos años que el número de positivos sufre incrementos cíclicos de manera estacional, presentando un pico a partir de verano y después de verano, siendo menor el número de casos durante los meses de invierno (Tabla 2) (Zdragas *et al.*, 2012).

Tabla 2. Distribución estacional y de prevalencia de serovares de *Salmonella* obtenido a partir de productos de la avicultura (Zdragas et al., 2012)

<i>Salmonella</i> serotypes	Isolates	%	Winter n, %	Summer n, %
Hadar	14	29.2	5 (35.70)	9 (64.30)
Enteritidis	11	22.9	2 (18.18)	9 (81.81)
Blockley	6	12.5	2 (33.33)	4 (66.66)
Typhimurium	5	10.4	2 (40.00)	3 (60.00)
Bredeney	3	6.3	0 (00.00)	3 (100.00)
Anatum	2	4.2	0 (00.00)	2 (100.00)
Thompson	2	4.2	0 (00.00)	2 (100.00)
Muenster	1	2.1	0 (00.00)	1 (100.00)
Montevideo	1	2.1	0 (00.00)	1 (100.00)
Havana	1	2.1	0 (00.00)	1 (100.00)
Kottbus	1	2.1	0 (00.00)	1 (100.00)
Enterica sub.enterica:k:1,5	1	2.1	0 (00.00)	1 (100.00)

Este patrón coincide con el que presentan los casos detectados de salmonelosis en personas, donde se suele producir un pico coincidiendo con el mes de agosto y luego el número de casos desciende gradualmente. Este hecho se atribuye directamente a los positivos a *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* en las manadas de aves, que son responsables de la mayoría de los casos en humanos respectivamente (European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).

Con la limpieza y desinfección ocurre algo similar, el número de muestras analizadas en los laboratorios siguen un valor homogéneo a lo largo del año, en cambio, los positivos detectados también siguen un patrón estacional (Zdragas et al., 2012). Este hallazgo confirma que el incremento estacional de aves positivas implica una mayor contaminación de las instalaciones en esas épocas del año.

d. Patogenia

La principal vía de contagio de *Salmonella* spp. en aves adultas es fecal-oral. Las aves ingieren la bacteria y ésta alcanza el ciego donde compete con la flora intestinal para poder adherirse a los enterocitos y células M. La adhesión es facilitada por los flagelos y fimbrias presentes en la pared bacteriana (Foley et al., 2013). Una vez adherida al epitelio intestinal la bacteria expresa un complejo multiproteico denominado T3SS, que es el encargado de facilitar la entrada de la bacteria en el endotelio y la invasión. Este complejo actúa creando un conducto entre el citoplasma bacteriano y la membrana celular del hospedador, cuya función es transportar toxinas y otras proteínas efectoras a las células intestinales. Entre las proteínas que son translocadas a través de T3SS, SopB tiene un papel importante en la activación de las vías

Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

secretoras, ya que facilita el proceso inflamatorio y altera el equilibrio osmótico de las células. Esto se traduce en un aumento de la secreción de fluidos en el tracto gastrointestinal y diarrea. También son liberadas otras proteínas efectoras como SipA y SipC, que junto a la ya mencionada SopB interactúan con los filamentos de actina del citoesqueleto de las células intestinales del hospedador, causando una flacidez y un cambio morfológico de la membrana celular, conocido como rizamiento (ruffling). Esta morfología facilita la entrada de *Salmonella* spp. en la célula y la internalización formando un compartimento unido a la membrana conocido como *Salmonella*-containing vacuole (SCV). Gracias a estos mecanismos la bacteria evita ser destruida por la vía fagolisosomal, por lo que el SCV tiene un papel crucial en la supervivencia y proliferación de *Salmonella* en las células intestinales y macrófagos (Foley *et al.*, 2013).

Una vez *Salmonella* spp. está dentro de las células del hospedador expresa un segundo T3SS que esta vez está codificado por el gen SPI-2 (SPI-2 T3SS), lo que permite a la SCV causar infecciones sistémicas y daño intracelular. Waterman & Holden (2003) demostraron que SPI-2 T3SS también alberga genes que pueden suprimir la presentación del antígeno en las células dendríticas, lo que disminuye la respuesta inmune del hospedador frente a las células infectadas.

Una vez atraviesa la barrera intestinal *Salmonella* spp. consigue replicarse en las células del hospedador en un pequeño porcentaje de casos, en los que evade la respuesta inmune del hospedador y causa infecciones sistémicas. Estas manifestaciones sistémicas ocurren cuando la bacteria invade macrófagos y células dendríticas, aunque sólo se ha demostrado que sea capaz de replicarse en las primeras, la causa todavía no se sabe. Lo que sí se sabe es que las células dendríticas facilitan la rápida propagación de *Salmonella* spp. en el organismo, debido a que son células que se encuentran en una gran cantidad de tejidos (Foley *et al.*, 2013). Por tanto, la habilidad de *Salmonella* spp. para causar infección depende de la habilidad innata de la bacteria para codificar y expresar una combinación de genes de virulencia que son capaces de evadir y neutralizar las defensas del hospedador. Estos factores están asociados con las islas de patogenicidad, plásmidos de virulencia, toxinas, fimbrias y flagelos (Foley *et al.*, 2013).

e. Mecanismos inmunológicos

La respuesta inmune frente a *Salmonella* spp. depende de la especie del hospedador y del serotipo de la bacteria que lo infecta (Foley *et al.*, 2013). Está ampliamente aceptado que la respuesta inmune celular tiene un papel más importante que la humoral en la protección frente

Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

a *Salmonella* spp. (Van Immerseel *et al.*, 2005). Además, la inmunidad mediada por células es más importante que la inmunidad humoral para la eliminación tisular de cepas virulentas, mientras que las IgA y los leucocitos polimorfonucleares parecen ser los principales encargados de la eliminación intestinal de *Salmonella* spp. (Van Immerseel *et al.*, 2005). La reducción bacteriana en las infecciones por *S. Typhimurium* en aves está relacionada con elevadas respuestas de inmunidad mediada por células y no por niveles elevados de anticuerpos. Desmidt *et al.* (1998) realizó un estudio en el que se utilizaban pollos bursectomizados infectados con *S. Enteritidis*, y demostró que los pollos sin linfocitos B excretaban mayor cantidad de la bacteria en heces, mientras que en órganos internos seguían teniendo niveles normales a otros infectados, lo cual indicaba el efecto protector de las IgA frente a colonización intestinal. Al mismo tiempo, el posterior descenso de la carga viral en órganos internos (hígado y bazo) ocurrió de igual forma que en pollos no bursectomizados, confirmando lo que se pensaba sobre el papel de otros mecanismos inmunes en la eliminación de la bacteria de órganos internos.

El ciego es conocido por ser el sitio predominante para la colonización y la invasión por *Salmonella* spp. en pollos. Se ha visto que tras la inmunización oral a pollitos recién nacidos con una cepa atenuada de *S. Enteritidis*, las células inmunes son atraídas a la lámina propia cecal en gran cantidad. Esta infiltración celular demuestra un interesante efecto protector frente a una invasión temprana post-nacimiento de *Salmonella* spp. (Van Immerseel *et al.*, 2005).

3.2. Historia y antecedentes de *Salmonella* spp. en la Unión Europea

La salmonelosis es la segunda toxiinfección alimentaria en Europa solo por detrás de la campilobacteriosis, siendo los huevos y ovoproductos la principal fuente de infecciones por *Salmonella* spp. en humanos en Europa (European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).

Desde los años 2000, las zonas con mayor prevalencia de manadas positivas (5-10%) correspondían con los países del sureste europeo. En los productos obtenidos como los huevos, el porcentaje de contaminados también era elevado, entre un 3 y un 8% en el sur-este europeo, mientras que en el resto de Europa solo era positivo <1%. Tradicionalmente, los serovares notificados con mayor frecuencia en gallinas y broilers en Europa han sido *S. Enteritidis* (57,7%), *S. Typhimurium* (9,6%), y *S. Infantis* (6,9%). En huevos *S. Enteritidis* tenía aún mayor presencia (72,9%) (Van Immerseel *et al.*, 2005).

Como consecuencia de esto, a partir del año 2003 a nivel europeo se pone en marcha el Reglamento (CE) N.º 2160/2003 para el control de determinados serovares de *Salmonella* en las poblaciones animales, lo que promovió la puesta en marcha de diversos planes de control por cada uno de los países miembros. Actualmente en España existen 4 planes distintos para el control de ciertos serovares de *Salmonella* en gallinas reproductoras, gallinas ponedoras, pollos de engorde y pavos (Tabla 3).

Tabla 3. Cronograma de aplicación del Reglamento (CE) N.º 2160/2003 para el control de determinados serovares de *Salmonella* en las poblaciones animales (Ministerio de agricultura, pesca y Alimentación)

Zoonosis o agente	Población animal	Fase de la cadena alimentaria	Fecha de fijación del objetivo	Fecha de inicio del Programa Nacional de Control
Todos los serotipos de <i>Salmonella</i> con importancia para la salud pública: 5 serotipos (SE,ST,SH,SV,SI.)	Gallinas reproductoras líneas pesadas (carne) y líneas ligeras (Huevos)	Explotaciones de selección, multiplicación y recría de reproductoras	Se fijó 1-Jul-2005 Máximo 1% prevalencia Reglamento (CE) 1003/2005	1-enero-2007 hasta 31-12-2009
Serotipos de <i>Salmonella</i> con importancia para la salud pública (SE,ST)	Gallinas ponedoras	Explotaciones de producción de huevos (recría y puesta)	Aprobado 7/06/06 publicación en julio 2006 Reducción % ó máx 2%	1-enero-2008, (hasta 31-12-2010)
Serotipos de importancia para la salud pública (SE,ST)	Pollos de engorde	Explotación de producción de pollos de carne	Estudio prevalencia Finalizó 2006, R. 646/2007 junio 07 máximo 1%	1-enero-2009 hasta el 31-12-2011
Serotipos de <i>Salmonella</i> con importancia para la salud pública (SE,ST)	Pavos	Explotaciones de reproductoras, explotaciones producción de pavos para carne	Estudio de prevalencia finalizó en oct-2007 R.584/2008. Objetivo 1%	1-enero-2010 Hasta el 31-12-2012.

Los últimos datos publicados por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en 2019 mostraron que únicamente el 4% de las manadas investigadas en España fueron positivas a *Salmonella* spp., identificándose los serovares *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* en un 1,1% (EFSA, 2019). Esta reducción en la prevalencia de *Salmonella* spp. a nivel de granja indica que las medidas aplicadas en los últimos años han sido efectivas.

4.- OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo fueron:

1. Conocer la situación epidemiológica actual de *Salmonella* spp. en gallinas reproductoras y ponedoras.
2. Revisar las herramientas de control existentes dentro del plan nacional de control de *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras.
3. Identificar las nuevas medidas de control para *Salmonella* spp. en avicultura y evaluar los resultados obtenidos hasta el momento.

5.- MATERIAL Y MÉTODOS

La metodología empleada para la realización de este trabajo se basó en la búsqueda bibliográfica de las características de *Salmonella* spp. y de los mecanismos su control en gallinas de puesta y reproductoras. La búsqueda de información bibliográfica se realizó en el periodo de tiempo comprendido entre los meses de febrero a mayo de 2021.

Para la realización de esta revisión bibliográfica se utilizaron artículos acotados en un periodo de tiempo entre el año 1995 y la actualidad (mayo 2021), seleccionándose un total de 47 artículos de habla inglesa y 1 en español desde las bases de datos Pubmed y WOS. También se incluyó información de un libro y de 2 documentos oficiales publicados en la web del ministerio de agricultura, pesca y alimentación y la EFSA.

5.1. Estrategia de búsqueda de la información

La búsqueda de artículos se realizó mediante el uso de palabras clave (Tabla 4) conectadas mediante los operadores booleanos ``AND`` y ``OR`` en la base de datos Pubmed.

Tabla 4. Palabras clave empleadas para la búsqueda de artículos.

<i>Salmonella</i>
Poultry
Layer hens
Bacteriophage
Pathogenicity
Biosecurity
Vaccine

5.2. Factores de inclusión y exclusión

Para la elección de los artículos incluidos en este trabajo, se utilizaron los siguientes factores de inclusión y exclusión:

5.2.1 Factores de inclusión

- Artículos publicados a partir de 1995
- Artículos publicados en revistas de ámbito científico y en las bases de datos Pubmed y WOS.
- Artículos y libros cuyo título esté relacionado con el tema a tratar.

5.2.2 Factores de exclusión

- Artículos en idiomas diferentes al inglés o español.
- Artículos de acceso restringido o de acceso mediante pago.
- Artículos que trataran sólo de *Salmonella* spp. en humanos

5.3. Gestión de la información

Los artículos seleccionados se clasificaron en base a su contenido teórico en las siguientes carpetas:

- Características generales y taxonomía de *Salmonella* spp.
- Fisiopatología y epidemiología
- Herramientas de control de *Salmonella* spp.
- Herramientas de control alternativas

El conjunto de artículos utilizados se incorporó al programa Zotero para la gestión de las citas bibliográficas.

6.- RESULTADOS

Mediante las búsquedas iniciales se encontraron un total de 105 artículos, de los cuáles se descartaron 58 ya que no cumplían los factores de inclusión marcados. De los 47 artículos seleccionados, 6 se emplearon para describir las características generales y la taxonomía de *Salmonella* spp., 8 para conocer la fisiopatología y la epidemiología, 31 para conocer las herramientas de control existentes y sus resultados y 2 para redactar las herramientas de control alternativas. Además, se utilizó información extraída de 1 libro y de 2 documentos oficiales, haciendo un total de 50 elementos.

A continuación, en la *Tabla 5* se incluyen los documentos utilizados indicando su título, autor y año de publicación, ordenados de más antiguos a más nuevos.

Tabla 5. Artículos seleccionados

Autor/es	Título	Año de publicación
Robert H. Davies, Clifford Wray	Observations on Disinfection Regimens Used on <i>Salmonella</i> Enteritidis Infected Poultry Units	1995
R. H. Davies and C. Wray	Studies of Contamination of Three Broiler Breeder Houses with <i>Salmonella</i> Enteritidis before and after Cleansing and Disinfection	1996
Robert W. Husband & Md. Mahbub Hasan.	A new Podapolipus (Acari: Podapolipidae) from <i>Alphitobius</i> spp. (Coleoptera: Tenebrionidae) from Bangladesh	03/1998
Miek Desmidt, R. Ducatelle, J. Mast, B. M. Goddeeris, B. Kaspers, F. Haesebrouck	Role of the humoral immune system in <i>Salmonella</i> Enteritidis phage type four infection in chickens	06/1998
F. W. Brenner, R. G. Villar, F. J. Angulo, R. Tauxe, B. Swaninathan	<i>Salmonella</i> Nomenclature	2000
A. Berchieri Jr , C. K. Murphy , K. Marston & P. A. Barrow	Observations on the persistence and vertical transmission of <i>Salmonella</i>	2001

	enterica serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: Effect of bacterial and host genetic background.	
E. Liébana, L. Garcia-Migura, C. Clouting, F.A. Clifton-Hadley, M. Breslin, R.H. Davies	Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wildlife vectors in the maintenance of <i>Salmonella</i> Enteritidis infection in layer farms: <i>Salmonella</i> reservoirs on egg production	05/2003
M.I. Khan, A.A. Fadl and K.S. Venkitanarayanan	Reducing colonization of <i>Salmonella</i> Enteritidis in chicken by targeting outer membrane proteins	07/2003
Scott R. Waterman and David W. Holden	Functions and effectors of the <i>Salmonella</i> pathogenicity island 2 type III secretion system	08/2003
K.O. Gradel, J.Chr. Jorgensen, J.S. Andersen, J.E.L. Corry	Monitoring the efficacy of steam and formaldehyde treatment of naturally <i>Salmonella</i> -infected layer houses	2004
Jeroen De Buck, Filip Van Immerseel, Freddy Haesebrouck, Richard Ducatelle	Protection of laying hens against <i>Salmonella</i> Enteritidis by immunization with type 1 fimbriae	01/2005
Laurimar Fiorentin, Nilson D. Vieira and Waldomiro Barioni Jr	Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of <i>Salmonella</i> Enteritidis PT4 in caecal contents of broilers	06/2005
F. Van Immerseel, U. Methner, I. Rychlik, B. Nagy, P. Velge, G. Martin, N. Foster, R. Ducatelle, P. A. Barrow	Vaccination and early protection against non-host-specific <i>Salmonella</i> serotypes in poultry: exploitation of innate immunity and microbial activity	07/2005
Inne Gantois, Richard Ducatelle, Leen Timbermont,	Oral immunisation of laying hens with the live vaccine strains of TAD	2006

Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

Filip Boyen, Lotte Bohez, Freddy Haesebrouck, Frank Pasmans, Filip Van Immerseel.	<i>Salmonella</i> vac [®] E and TAD <i>Salmonella</i> vac [®] T reduces internal egg contamination with <i>Salmonella</i> Enteritidis	
C. Valiente Moro, C. Chauve, L. Zenner	Experimental infection of <i>Salmonella</i> Enteritidis by the poultry red mite, <i>Dermanyssus gallinae</i>	05/2007
Vijay K. Juneja, Martin Valenzuela Melendres, Lihan Huang, Vinod Gumudavelli, Jeyamkondan Subbiah, Harshavardhan Thippareddi	Modeling the effect of temperature on growth of <i>Salmonella</i> in chicken	06/2007
Andrew Wales, Robert Davies, Mark Breslin, Ben Carter, Robin Sayers	A longitudinal study of environmental <i>Salmonella</i> contamination in caged and free- range layer flocks	06/2007
Stenzel, T., Tykałowski, B. A. R. T. Ł. O. M. I. E. J., Mazur-Lech, B., & Koncicki, A	Infections in wildlife birds—results of serological screening.	2008
J.J Carrique-Mas, R.H Davies	Sampling and bacteriological detection of <i>Salmonella</i> in poultry and poultry premises: a review.	12/2008
Tawni L. Crippen, Cynthia L. Sheffield, Sharon V. Esquivel, Robert E. Droleskey, and Jesus F. Esquivel	The Acquisition and Internalization of <i>Salmonella</i> by the Lesser Mealworm, <i>Alphitobius diaperinus</i> (Coleoptera: Tenebrionidae)	02/2009
A. D. Wales, J. J. Carrique-Mas, M. Rankin, B. Bell, B. B. Thind, R. H. Davies	Review of the Carriage of Zoonotic Bacteria by Arthropods, with Special Reference to <i>Salmonella</i> in Mites, Flies and Litter Beetles	04/2009
J. J. Carrique-Mas, M. Breslin, L. Snow, L. McLaren, A. R. Sayers and R. H. Davies	Persistence and clearance of different <i>Salmonella</i> serovars in buildings housing laying hens	06/2009

Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

Inne Gantois, Richard Ducatelle, Frank Pasmans, Freddy Haesebrouck, Richard Gast, Tom J. Humphrey, Filip Van Immerseel	Mechanisms of egg contamination by <i>Salmonella</i> Enteritidis	07/2009
Galina Gindin, Itamar Glazer, Aziza Mishoutchenko, Michael Samish	Entomopathogenic fungi as a potential control agent against the lesser mealworm, <i>Alphitobius diaperinus</i> in broiler houses	08/2009
M. Mul, T. Van Niekerk, J. Chirico, V. Maurer, O. Kilpinen, O. Sparagano, B.Thind and C. Chauve	Control methods for <i>Dermanyssus gallinae</i> in systems for laying hens: results of an international seminar	12/2009
Jiang, Y., Kulkarni, R. R., Parreira, V. R., Poppe, C., Roland, K. L., & Prescott, J. F.	Assessment of 2 <i>Salmonella</i> enterica serovar Typhimurium-based vaccines against necrotic enteritis in reducing colonization of chickens by <i>Salmonella</i> serovars of different serogroup	2010
Pete Kaiser	Advances in avian immunology	10/2010
Fernanda C. Dórea, Dana J. Cole, Charles Hofacre, Katherine Zamperini, Demetrius Mathis, Michael P. Doyle, Margie D. Lee, John J. Maurer	Effect of <i>Salmonella</i> Vaccination of Breeder Chickens on Contamination of Broiler Chicken Carcasses in Integrated Poultry Operations	12/2010
R. Ducatelle, F. Van Immerseel	Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products: Management and sanitation procedures to control <i>Salmonella</i> in laying hen flocks	2011
M. Agbaje & R. H. Begum, M. A. Oyekunle, O. E. Ojo, O. T. Adenubi	Evolution of <i>Salmonella</i> nomenclature: a critical note	11/2011

M. Matulova, H. Havlickova, F. Sisak, I. Rychlik	Vaccination of chickens with <i>Salmonella</i> Pathogenicity Island (SPI) 1 and SPI2 defective mutants of <i>Salmonella enterica</i> serovar Enteritidis	03/2012
A. Zdragas, K. Mazaraki, G. Vafeas, V. Giantzi, T. Papadopoulos and L. Ekateriniadou	Prevalence, seasonal occurrence and antimicrobial resistance of <i>Salmonella</i> in poultry retail products in Greece	10/2012
Taseen S Desin, Wolfgang Köster and Andrew A Potter	<i>Salmonella</i> vaccines in poultry: past, present and future	01/2013
Richard K. Gast, Rupa Guraya Deana R. Jones Kenneth E. Anderson	Colonization of internal organs by <i>Salmonella</i> Enteritidis in experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages	02/2013
Joelle Woolston, Adam R. Parks, Tamar Abuladze, Bradley Andersona, Manrong Li, Chandi Carter, Leigh Farris Hanna, Serena Heyse, Duane Charbonneau & Alexander Sulakvelidze	Bacteriophages lytic for <i>Salmonella</i> rapidly reduce <i>Salmonella</i> contamination on glass and stainless steel surfaces	07/2013
Steven L. Foley,a Timothy J. Johnson,b Steven C. Ricke,c Rajesh Nayak,a Jessica Danzeisenb	<i>Salmonella</i> Pathogenicity and Host Adaptation in Chicken-Associated Serovars	12/2013
G. Kallapura, M. J. Morgan, N. R. Pumford, L. R. Bielke, A. D. Wolfenden, O. B. Faulkner, J. D. Latorre, A. Menconi, X. Hernandez-Velasco , V. A.	Evaluation of the respiratory route as a viable portal of entry for <i>Salmonella</i> in poultry via intratracheal challenge of <i>Salmonella</i> Enteritidis and <i>Salmonella</i> Typhimurium	2014

Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

Kuttappan, B. M. Hargis, and G. Tellez		
Harriet Whiley, Kirstin Ross	<i>Salmonella</i> and Eggs: From Production to Plate	02/2015
Cristina García, Clara Marín, Pablo Catalá-Gregori y Jose Miguel Soriano	Empleo de bacteriófagos frente a <i>Salmonella</i> Enteritidis como herramienta de prevención	06/2015
Arquette Grant, Salina Parveen, Jurgen Schwarz, Fawzy Hashem, and Bob Vimini	Reduction of <i>Salmonella</i> in ground chicken using a bacteriophage	08/2017
D. G. P. Oliveira, A. K. Bonini, L. F. A. Alves	Field assessments to control the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) using diatomaceous earth in poultry Houses	12/2017
Secretaría General Técnica Centro de Publicaciones	Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Informe de zoonosis 2018	2018
Alexander J. Howard, Kapil K. Chousalkar, Andrea R. McWhorter	In vitro and in vivo efficacy of a live attenuated <i>Salmonella</i> Typhimurium vaccine at preventing intestinal colonization in chicks	09/2018
Joana Campos, Clara Sousa, Joana Mourão, João Lopes, Patrícia Antunes, Luísa Peixe	Discrimination of non-typhoid <i>Salmonella</i> serogroups and serotypes by Fourier Transform Infrared Spectroscopy: A comprehensive analysis	11/2018
Yosef D. Huberman, Alejandra V. Velilla, Horacio R. Terzolo	Evaluation of different live <i>Salmonella</i> Enteritidis vaccine schedules administered during layer hen rearing to reduce excretion, organ colonization, and egg contamination	06/2019

Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

Qiuchun Li, Yue Zhu, Jingwei Ren, Zhuang Qiao, Chao Yin, Honghong Xian, Yu Yuan, Shizhong Geng and Xinan Jiao	Evaluation of the Safety and Protection Efficacy of spiC and nmpC or rfaL Deletion Mutants of <i>Salmonella</i> Enteritidis as Live Vaccine Candidates for Poultry Non-Typhoidal Salmonellosis	22/2019
S. Sevilla-Navarro, P. Catalá-Gregoria, C. García, V. Cortés, C. Marin	<i>Salmonella</i> Infantis and <i>Salmonella</i> Enteritidis specific bacteriophages isolated from poultry faeces as a complementary tool for cleaning and disinfection against <i>Salmonella</i>	02/2020
Sandra Sevilla-Navarro, Pablo Catalá-Gregori, Clara Marin	<i>Salmonella</i> bacteriophage diversity according to most prevalent <i>Salmonella</i> serovars in layer and broiler poultry farms from eastern Spain	08/2020
Hye-Jin Lee, Ji-Yeon Jeong, Ok-Mi Jeong, So-Youn Youn, Jin-Hyun Kim, Dong-Wan Kim, Jong-Ung Yoon, Yong-Kuk Kwon, Min-SuKang	Impact of <i>Dermanyssus gallinae</i> infestation on persistent outbreaks of fowl typhoid in commercial layer chicken farms.	12/2020
European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control	The European Union One Health 2019 Zoonoses Report	2021

En cuanto a la distribución temporal de los artículos empleados no existe un patrón marcado (Figura 3), aunque si se observa un aumento marcado de las publicaciones durante el año 2009, ya que coincide con el momento aproximado de inicio de los planes nacionales de control y la obtención de los primeros resultados de las medidas que incluyen.



Figura 3. Número de artículos empleados por año.

Además, la mayor parte de los artículos empleados están elaborados por más de un autor (Figura 4).

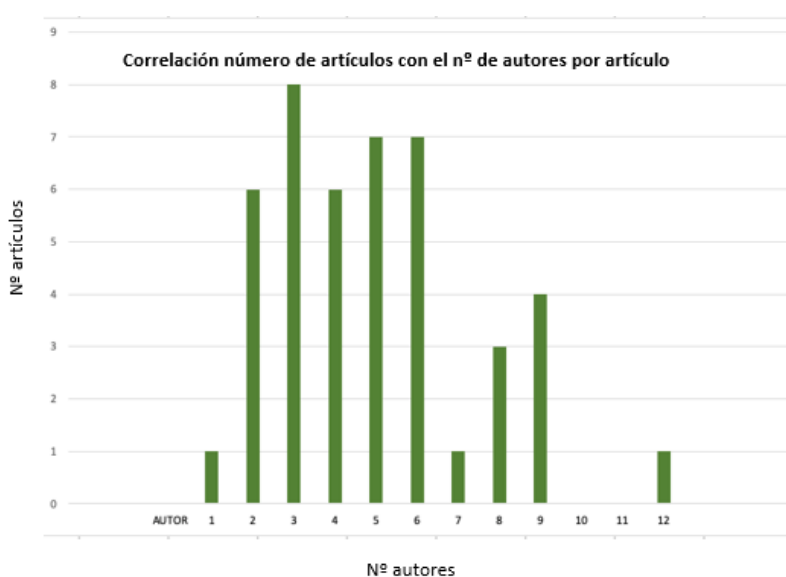


Figura 4. Número de artículos publicados según el número de autores.

7.- DISCUSIÓN

Salmonella spp. es la segunda causa de toxiinfecciones alimentarias en la Unión Europea con más de 87.923 casos notificados al año. Según los datos publicados por la EFSA, los huevos y ovoproductos son los principales alimentos asociados con los brotes de salmonelosis en personas. Los dos serovares transmitidos por aves con más prevalencia de zoonosis en Europa son *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* (EFSA & ECDC, 2021). El hecho de que estos serovares sean los que tengan mayor prevalencia en huevos y ovoproductos es debido a que, a diferencia del resto de serovares, se alojan de manera permanente en los tejidos del aparato reproductivo de las gallinas, donde pueden contaminar el huevo antes de que se forme la cáscara (Gantois et al., 2009). Además, estos serovares pueden penetrar a través de los poros de la cáscara al interior del huevo, donde se ha visto que *S. Enteritidis* posee mayor capacidad de supervivencia ante los componentes antibacterianos del albumen (Gantois et al., 2009).

Aunque en todos los tipos de producción avícola la infección de las aves por *Salmonella* spp. puede ocurrir en cualquier parte del ciclo productivo, probablemente la mayor parte de las infecciones tanto en ponedoras, reproductoras y broilers, ocurre en la etapa justo posterior al nacimiento de los pollitos, bien como resultado de contaminación de los propios huevos, de la incubadora/nacedora o de la granja de destino (Howard et al., 2018). Además, se ha demostrado que el polvo y los bioaerosoles, generados por los huevos contaminados dentro de las incubadoras y nacedoras, pueden propagar patógenos a otras áreas de la incubadora dependiendo del flujo de aire. La presencia de *Salmonella* spp. en muestras de aire de las incubadoras también se ha sido demostrado en diferentes estudios (Kallapura et al., 2014; Howard et al., 2018).

Con respecto al tipo de producción de las aves y la contaminación de los huevos, a día de hoy no existe un consenso, pese a que algunos estudios indican que hay una mayor prevalencia en sistemas de producción en jaula (Wales et al., 2007). En cambio, dentro de los sistemas de producción en jaula sí que se ha visto que las jaulas no enriquecidas favorecen una mayor propagación de la enfermedad entre las aves. Un estudio realizado por Gast et al. (2013) detectó *S. Enteritidis* con mayor frecuencia en muestras de hígados, bazo, ovarios y oviductos de las gallinas albergadas en jaulas no enriquecidas en comparación con gallinas albergadas en jaulas enriquecidas. Se cree que esto se debe a parámetros de densidad y estrés que son menores en las jaulas enriquecidas, que hacen que las aves sean menos susceptibles a la propagación e infección de la enfermedad (Whiley & Ross, 2015).

Debido a la importancia de esta bacteria para la salud pública, una reducción de la prevalencia de *Salmonella* spp. a nivel de producción primaria permitiría disminuir el número de casos de salmonelosis en personas. Gracias a la aplicación de los planes nacionales de control de *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras se ha conseguido una reducción muy importante de la prevalencia en granja. Estos programas de control se basan principalmente en el monitoreo y la aplicación de medidas estrictas de bioseguridad. Además de estas estrategias, la vacunación juega un papel clave en la prevención de la infección y la diseminación a través de los huevos y la carne de ave.

Desde la implementación de los planes de control de *Salmonella* spp. en Europa el serovar que se detectaba más comúnmente en las manadas de aves era *S. Enteritidis* y descendió sustancialmente hasta 2013, después comenzó a aumentar en personas y ponedoras. Esta tendencia además fue acompañada de un aumento de determinados serovares que anteriormente eran menos comunes, como *S. Infantis*, *S. Stanley*, *S. Kentucky* y *S. Heidelberg* (Campos *et al.*, 2018). Se estima que la prevalencia de los serovares objeto de control en reproductoras descendió de un 1.12% en 2007 a un 0,32% en 2016. En ponedoras, se estima de descendió de un 3,58% en 2008 a un 1,47% en 2016 (Figura 5).

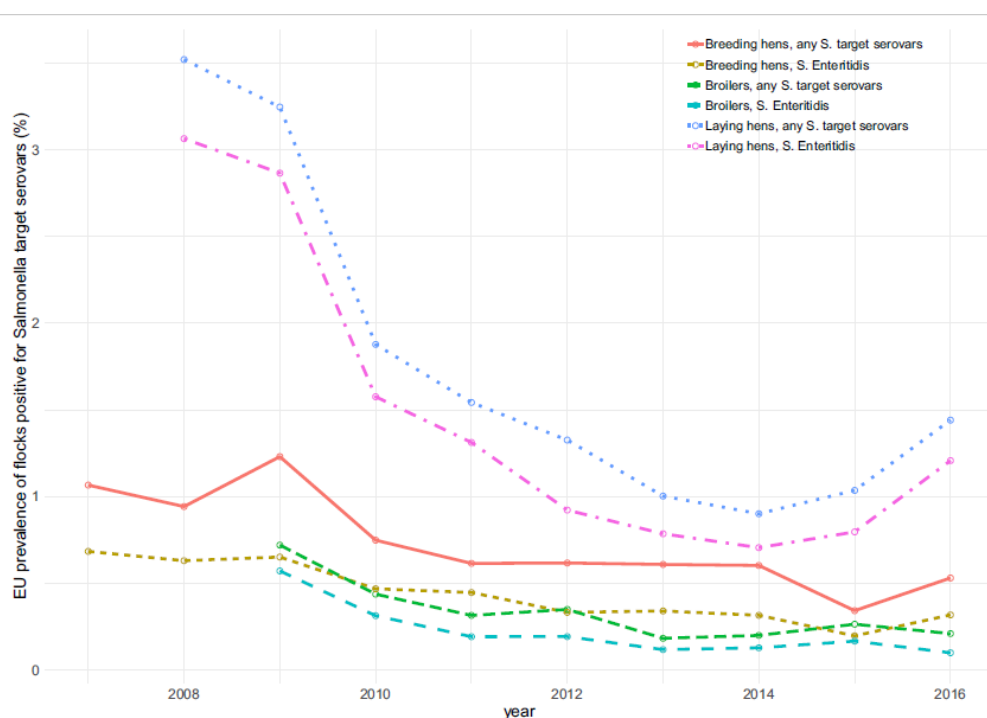


Figura 5. Prevalencia de *Salmonella* objetivo de control en los diferentes tipos de producción avícola en la UE, 2007–2016 (European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).

Con respecto a la prevalencia de *Salmonella* spp. en Europa, se ha observado una disminución desde el año 2008, aunque con variaciones con el paso de los años en los diferentes tipos de especies (Figura 6).

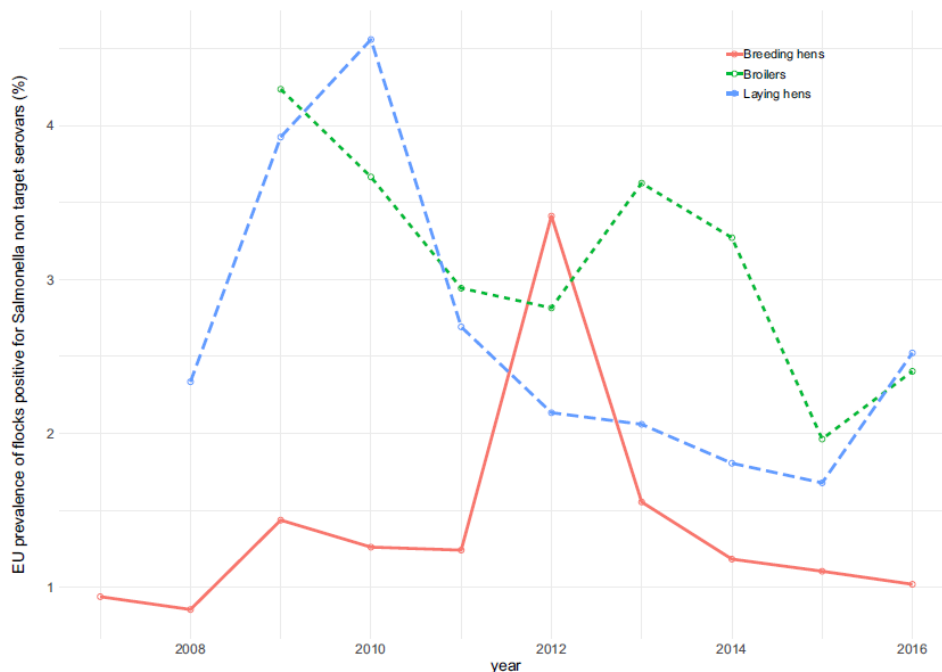


Figura 6. Prevalencia de *Salmonella* spp. en los diferentes tipos de producción avícola en la UE, 2007–2016 (European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).

7.1. Estrategias de control

a. Plan nacional de control en ponedoras y reproductoras

Como consecuencia de la aplicación del Reglamento Europeo 2160/2003 los diferentes países a nivel europeo crearon sus propios planes para reducir la prevalencia de determinados serovares hasta los objetivos marcados por el presente reglamento. En el caso de España existen 4 planes, cada uno específico de una especie o tipo de producción, con serovares objeto de control diferentes para cada uno (ponedoras, reproductoras, pollos de engorde y pavos).

Concretamente, en 2007 comenzó a aplicarse el PNCS en gallinas reproductoras, que tenía como objetivo el control de: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, incluyendo su variante monofásica con fórmula antigénica 1,4,[5],12:i:, *S. Infantis*, *S. Virchow* y *S. Hadar*, ya que eran los serovares más frecuentemente implicados en toxiinfecciones alimentarias en humanos. El objetivo a largo plazo se centraba en conseguir una reducción de prevalencia por debajo del 1% en explotaciones de más de 250 aves adultas.

Un año más tarde se puso en marcha el plan en gallinas ponedoras adultas, este plan se centró en el control y reducción de los serovares *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* incluyendo su cepa monofásica con fórmula antigénica 1,4,[5]:i:-. Inicialmente tenía el objetivo de mantener o limitar un porcentaje de manadas positivas a estos serovares del 20%, posteriormente 10% y finalmente y hasta ahora del 2%. En el Anexo 1 se detallan las medidas aplicables a dichos planes.

Desde que se implementaron los PNCS en aves de corral, el número de positivos en las explotaciones ha ido descendiendo año a año hasta encontrarse dentro de los valores objetivo de cada plan (Figura 7 y 8), lo que indica que el conjunto de medidas incluidas es efectivo.

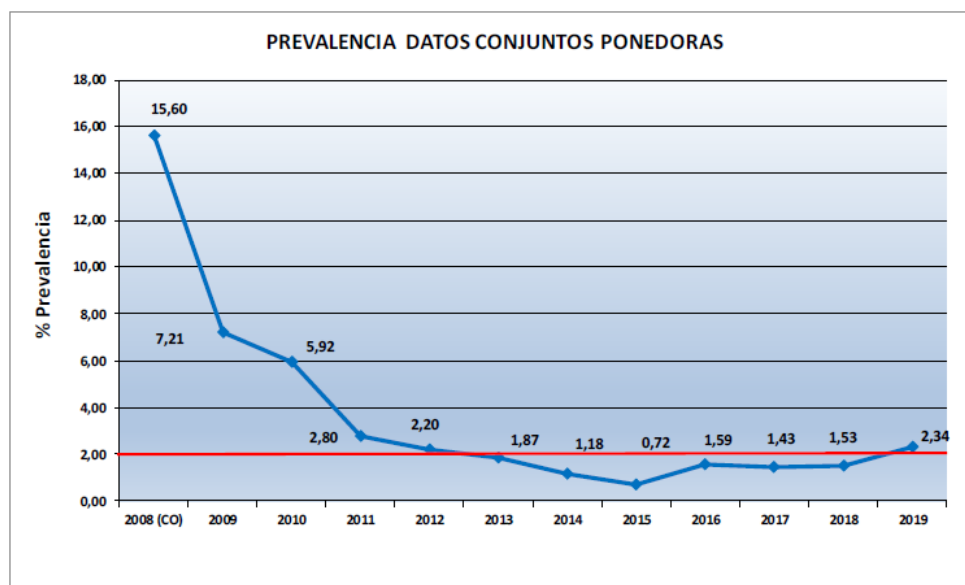


Figura 7. Prevalencia de explotaciones de gallinas ponedoras con casos positivos a serovares objeto de control en España (PNCS ponedoras)

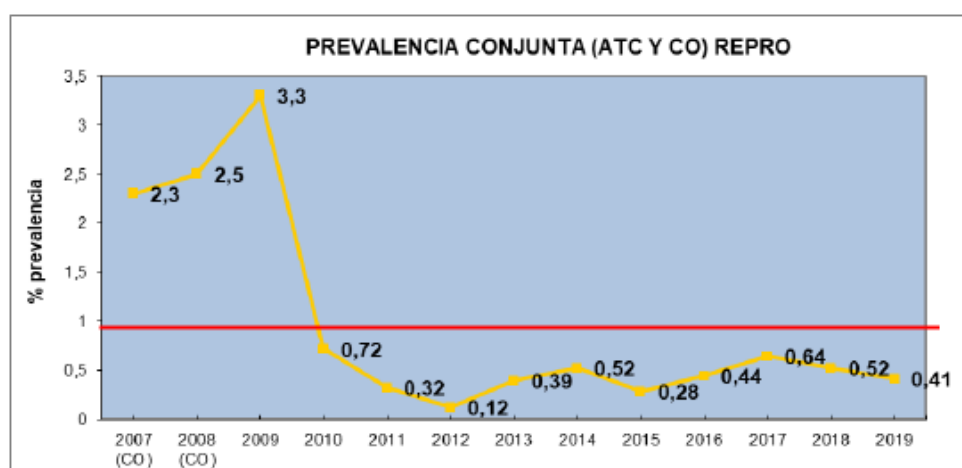


Figura 8. Prevalencia conjunta de serovares objeto de control en aves reproductoras de la especie *Gallus gallus* en España (PNCS reproductoras)

Considerando únicamente los serovares de *Salmonella* objeto de control, en 2018 las gallinas ponedoras fueron las más afectadas con un porcentaje de prevalencia del 1,5%. Le siguen los pavos de reproducción con un 1,0% y las gallinas reproductoras con un 0,5% (Tabla 6) (Ministerio de agricultura pesca y alimentación, 2018, p. 15).

Tabla 6. Positividad a *Salmonella* objeto de control de las manadas de aves investigadas en 2018, en España (Ministerio de agricultura pesca y alimentación, 2018, p. 159)

Especie	Manadas analizadas	Positivas a S. objeto de control	% Positividad a S. objeto de control
Gallinas ponedoras	2.943	45	1,5%
Gallinas reproductoras	1.717	9	0,5%
Pavos de engorde	4.191	20	0,5%
Pavos de reproducción	103	1	1,0%
Pollos de carne	40.832	49	0,1%

b. Herramientas para el control de *Salmonella* spp.:

No existe una herramienta de control que sea eficaz por sí sola, sino que la eficacia en el control de la salmonelosis en aves recae en la aplicación de un conjunto de medidas, de las cuales unas no son efectivas sin las otras.

i. Higiene y bioseguridad en las explotaciones

Este punto es la base del control de *Salmonella* spp. en las explotaciones de aves, dado que si este no se hace correctamente ninguna de las demás medidas conseguirá controlar el problema. Este microorganismo es muy ubicuo y posee gran capacidad de supervivencia en el ambiente, por lo que los procedimientos aplicados principalmente se basan en prevenir la entrada de *Salmonella* spp. en la explotación y reducir su propagación. Se ha demostrado que *S. Enteritidis* puede persistir al menos un año en explotaciones avícolas vacías, por lo que uno de los puntos más importantes es la limpieza y desinfección entre lotes de aves (Carrique-Mas *et al.*, 2009; Davies and Wray *et al.*, 1996).

Existen numerosos desinfectantes en el mercado, aunque cada vez poseen menos efectividad debido a la capacidad de resistencia y habilidad de formar biofilms de la bacteria. El uso de un 10% de formalina (formaldehído) consigue una mayor reducción de la prevalencia en

comparación con cualquier otro desinfectante probado, aunque su uso está actualmente prohibido en Europa (Gradel *et al.*, 2004), por lo que se utilizan otros desinfectantes en forma de espuma, que permanecen más tiempo en contacto con las superficies. Además, otras alternativas que han demostrado resultados eficaces en la eliminación de *Salmonella* de las instalaciones incluyen el uso de vapor a temperatura constante de 60° y humedad relativa del 100% durante 24h (Gradel *et al.*, 2004). Además de la limpieza y desinfección se debe tener un riguroso control de los posibles vectores y reservorios de esta bacteria presentes en las explotaciones entre los que destaca el agua, pienso, cama, trabajadores y visitantes, ropa, vehículos, roedores, insectos, ácaros rojos, animales silvestres y otros animales domésticos (Ducatelle & Van Immerseel, 2011).

Los roedores infectados son capaces de excretar *Salmonella* spp. en sus heces de forma intermitente, en concentraciones de 10^4 UFC por gota (Davies and Wray, 1995). En un estudio realizado por Davies and Wray, (1995) se demostró que los pollitos de 3 semanas de edad pueden ser infectados tras estar en contacto con heces de ratones infectados experimentalmente con *S. Enteritidis*. Esto apoya la idea de que elevados niveles de roedores en las explotaciones están relacionados con una mayor persistencia de *S. Enteritidis* y una reducción de la eficacia de la limpieza y desinfección entre lotes (Liébana *et al.*, 2003). Por ello, el control de los roedores debe basarse en 3 pilares básicos (Carrique-Mas *et al.*, 2008; Ducatelle & Van Immerseel, 2011). En primer lugar, se debe prevenir la infestación modificando el ambiente. Incluyendo desde un correcto vallado perimetral de la explotación hasta un correcto aislamiento de la nave, con un adecuado estado del terreno que rodee a la misma, que debe estar limpio de objetos y de vegetación que puedan servir de refugio o nido para roedores y otras plagas. Esto ayudará a la efectividad de un correcto plan de control de plagas. En segundo lugar, deben existir elementos que permitan monitorizar su presencia para implementar medidas de control en los momentos que sea necesario. Por último, aplicar un conjunto de medidas de control, como son las trampas, rodenticidas, caza, etc. que permitan eliminar o reducir los roedores.

Los insectos representan un riesgo potencial en la transmisión de *Salmonella* spp. Uno de los insectos que deben controlarse para prevenir problemas con esta bacteria en gallinas ponedoras y reproductoras es el escarabajo *Alphitobius diaperinus*, ya que pueden ser vectores mecánicos de la bacteria. Se ha descrito que estos escarabajos y sus larvas son ingeridos por las gallinas, y por tanto son una fuente potencial de infección (Ducatelle & Van Immerseel, 2011). Estos escarabajos presentan elevadas tasas de reproducción, y son complicados de eliminar. Aunque se sabe que son altamente susceptibles a los insecticidas, estos no siempre entran en

contacto con ellos ya que suelen estar escondidos. Se han intentado utilizar predadores, aunque no han sido efectivos (Husband & Hasan, 1998). En cambio, sí se han obtenido resultados satisfactorios mediante la combinación de tierra de diatomeas, hongos entomopatógenos y los insecticidas (Gindin et al., 2009; Oliveira et al., 2017). Otro de los insectos que actúan como vectores mecánicos y biológicos de la bacteria son las moscas (*Musca doméstica*), que pueden transmitir *S. Enteritidis* entre ellas y a los roedores. Además, también se ha demostrado que pueden transportar la bacteria y que esta se multiplique en ellas durante más de 10 días (Wales et al., 2009). Debido a esto se aplican medidas de aislamiento para evitar su entrada en las naves, y sobre todo se controla mediante el uso de insecticidas (Ducatelle & Van Immerseel, 2011).

Otro de los vectores que tiene un papel importante en la introducción de *Salmonella* spp. en los lotes de aves es *D. gallinae*. Se ha demostrado que la presencia del ácaro rojo en los lotes de reproductoras y ponedoras genera un importante estrés en las aves, causando una mayor susceptibilidad a las infecciones por esta bacteria, incluso en aves vacunadas. En un estudio realizado por Lee et al. (2020) se observó que las gallinas que sufrían stress, simulando el causado por este ectoparásito, tenían mayor prevalencia y mortalidad tras la exposición a *S. Gallinarum* que las que no lo padecían. Para el control de este parásito existen diferentes métodos, dividiéndose en métodos convencionales y alternativos. Entre los convencionales se encuentran una correcta limpieza de las instalaciones, ya que se ha visto que una simple limpieza con agua puede eliminar grandes cantidades de ácaros y sus huevos (Mul et al., 2009). Además, es frecuente el uso de tierra de diatomeas y acaricidas, que no consiguen eliminar el problema en la mayoría de los casos, aunque, se ha visto que en combinación con tratamientos de calor de las instalaciones entre ciclos productivos se consigue eliminar este ácaro en la mayoría de los casos (Mul et al., 2009). En cuanto a los métodos alternativos se están estudiando el uso de depredadores naturales e incluso variaciones en los programas de luz, todavía sin resultados significativos (Mul et al., 2009).

Además, se han encontrado elevados niveles de anticuerpos frente a *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* en aves silvestres (Stenzel et al., 2008). Por tanto, se debe impedir el contacto con aves silvestres en explotaciones avícolas mediante un correcto aislado de las naves, evitando pequeños huecos por los que puedan colarse (juntas de las puertas o conductos de ventilación), aunque esto no siempre es posible en explotaciones de puesta alternativas debido al contacto con el exterior de estas aves (Ducatelle & Van Immerseel, 2011).

Por otro lado, el agua utilizada debe garantizarse que esté libre de *Salmonella* spp. entre otros patógenos. En muchos casos esta proviene de pozo, y por tanto debe clorarse

adecuadamente o cualquier otro método que garantice su potabilidad. En segundo lugar, la comida debe cumplir este mismo requisito, Davies & Wray (1996) demostraron que *S. Enteritidis* puede sobrevivir en el pienso al menos 26 meses. Por tanto, debe garantizarse que los silos y los lugares de almacenamiento están bien aislados del exterior y de roedores o animales silvestres (Ducatelle & Van Immerseel, 2011).

Finalmente, debemos saber que existen numerosas medidas de bioseguridad para combatir *Salmonella* spp., pero la erradicación de los serovares no hospedador-específicos no es una medida realista a día de hoy, debido a la gran cantidad de hospedadores y la elevada contaminación ambiental de estas bacterias (Huberman *et al.*, 2019).

ii. Controles oficiales y autocontroles

Otro de los puntos clave que incluye la legislación de los planes nacionales de control de *Salmonella* spp. en aves, se centra en la realización de una serie de controles oficiales y autocontroles por parte de las autoridades oficiales y ganaderos. Estas herramientas permiten el monitoreo de esta bacteria y la detección temprana para reducir al máximo su diseminación, evitando el paso a la cadena alimentaria de productos contaminados. Este cribado tiene especial importancia sobre todo en reproductoras, donde son más restrictivos ya que estas tienen la capacidad de diseminar rápidamente la infección a través del huevo y por contaminación de las incubadoras y nacedoras, teniendo un efecto exponencial.

- Autocontroles

Se llevan a cabo por parte del responsable de la explotación, deben tener como mínimo la frecuencia marcada por la legislación (Tabla 7 y 8).

Tabla 7. Autocontroles en gallinas ponedoras (PNCS gallinas ponedoras 2021)

Zoonosis/ Agente zoonótico	Manadas de aves productoras de huevos destinados al consumo humano.	Fases de la producción que debe cubrir la toma de muestras
<i>Salmonella</i> de importancia para la salud pública (ST y SE)	1.1. Manadas de cría. 1.2. Aves productoras adultas.	I. Pollitas de un día II. Pollitas, 2 semanas antes del traslado a la unidad de puesta III. Cada 15 semanas durante la fase de puesta (desde la 24±2 semanas).

Tabla 8. Autocontroles en gallinas reproductoras (PNCS gallinas reproductoras 2021)

Zoonosis/ Agente zoonótico	Manadas de aves reproductoras	Fases de la producción que debe cubrir la toma de muestras
<i>Salmonella</i> de importancia para la salud pública (ST, SE, SH, SV, SI)	1.1. Manadas de cría.	I. Pollitos de un día II. Aves de 4 semanas III. 2 semanas antes de entrar en la fase o unidad de puesta
	1.2. Aves productoras adultas.	I. Cada 2 semanas durante la fase de puesta

- Controles oficiales

Se llevan a cabo por parte de las autoridades oficiales, se utilizan para mantener un control a nivel general de las explotaciones. Por tanto, su frecuencia es menor a la de los autocontroles (Tabla 9).

Tabla 9. Controles oficiales en gallinas ponedoras y reproductoras (elaboración propia, PNCS gallinas ponedoras y reproductoras 2021)

Zoonosis/ Agente zoonótico	Manadas de aves productoras de huevos destinados al consumo humano	Fases de la producción que debe cubrir la toma de muestras
Ponedoras: <i>Salmonella</i> de importancia para la salud pública (S. Typhimurium y S. Enteritidis)	1. Explotaciones con un censo mayor de 1000 aves.	I. Al menos una manada por explotación y año, preferiblemente al final del periodo reproductivo II. A la edad de 24 ± 2 semanas en manadas alojadas en naves en las que la manada anterior fue positiva III. En cualquier caso de sospecha de infección por <i>Salmonella</i> IV. En el resto de manadas de la explotación en caso de que alguna manada fuera positiva a <i>Salmonella</i>

<p>Reproductoras: <i>Salmonella</i> de importancia para la salud pública (<i>S. Enteritidis</i>, <i>S. Typhimurium</i>, <i>S. Infantis</i>, <i>S. Virchow</i> y <i>S. Hadar</i>)</p>	<p>2. Explotaciones con un censo mayor de 250 aves</p>	<p>I. Dentro de las 4 semanas posteriores al traslado a la unidad de puesta</p> <p>II. Al final de la fase de puesta, dentro de las 8 semanas previas al fin de producción</p> <p>III. Otro durante el periodo productivo, lo suficientemente alejado de los dos anteriores</p>
--	--	---

iii. Vacunación

1. Historia y fundamentos

La vacunación es otro de los pilares de actuación más importantes para el control de *Salmonella* spp., incluidos en el plan nacional de control. La vacunación de las reproductoras y gallinas ponedoras ha mostrado conferir protección frente a la infección por *Salmonella* spp. y disminuir los niveles de colonización intestinal, excreción de la bacteria y contaminación de las explotaciones (Van Immerseel *et al.*, 2005). Se ha demostrado que la protección alcanzada por la vacunación varía bastante en función de la importancia del desafío a nivel de campo, ya que en condiciones en las que existe un gran desafío de *Salmonella* spp., la vacunación no consigue una protección completa, pero sí reduce la colonización y excreción (Gantois *et al.*, 2006).

La vacunación frente a serovares de *Salmonella* hospedador-específicas (como *S. Gallinarum* y *S. Pullorum*) genera una fuerte inmunidad protectora serotipo-específica frente a la infección y la enfermedad. En cambio, en la vacunación frente a serovares de *Salmonella* no hospedador-específicos genera una protección no tan efectiva que varía en función de la vacuna empleada (Van Immerseel *et al.*, 2005).

Los genes que codifican para factores metabólicos o de virulencia son los objetivos principales para producir vacunas seguras. Se intenta reducir el crecimiento bacteriano y la virulencia sin la afectación de algunos factores de virulencia claves y cierta capacidad de invasión, requeridos para generar una adecuada inmunogenicidad. Se realizan dobles o triples mutaciones para mejorar la seguridad de las cepas vacunales intentando evitar su reversión a la virulencia, debido a la capacidad de adquisición de genes de forma horizontal (Dórea *et al.*, 2010). Por lo tanto, la vacunación ideal debe ser segura, poseer inmunidad cruzada frente otros

serovares e inducir una buena inmunidad celular (Desin *et al.*, 2013). Siguiendo estos criterios, a día de hoy en el mercado existen principalmente 3 tipos de vacunas: vacunas vivas atenuadas, vacunas inactivadas y vacunas de subunidad.

Vacunas vivas atenuadas

Las vacunas vivas de *Salmonella* contienen cepas mutantes con deleciones de genes que son esenciales para el metabolismo bacteriano, para su virulencia o supervivencia en el organismo del hospedador. El sistema de secreción T3SS ha sido utilizado como objetivo para la elaboración de vacunas, sin embargo, se ha visto que este componente estructural posee antígenos que protegen también frente a otras bacterias, y por tanto, su deleción no se recomienda (Desin *et al.*, 2013). En cambio, la vacunación oral de gallinas con una cepa mutante de *S. Enteritidis* modificada mediante la eliminación de SPI-1 o SPI-2 resultó en menores niveles de la cepa desafío sistémicamente y en el ciego, ofreciendo una buena protección (Matulova *et al.*, 2012).

Se ha visto que la vacunación temprana con vacuna viva atenuada de *Salmonella* spp. reduce la colonización de cepas de campo desde los primeros días de vida en las aves, sobre todo aquellas de idéntico serovar al vacunal. Aunque igual que ocurre con las cepas desafío, la vacuna se excreta durante un mayor tiempo tras una vacunación temprana debido a la inmadurez del sistema inmune del pollito (Van Immerseel *et al.*, 2005). Estas vacunas estimulan tanto la respuesta inmune celular como la humoral de las aves. Una característica exclusiva de este tipo de vacunas es que poseen efectos protectores adicionales, especialmente cuando se administran vía oral, como son (Van Immerseel *et al.*, 2005):

- **Exclusión competitiva:** Principalmente es un efecto del metabolismo microbiano, y la estimulación de linfocitos polimorfonucleares en el intestino. Esta inhibición puede ser lograda también mediante la administración de preparaciones de flora intestinal normal (*E. coli*, *Citrobacter*, *Proteus*), ya que la ausencia de ésta en pollitos jóvenes los hace más susceptibles a infecciones intestinales. La aplicación de estos preparados se recomienda que sea lo más temprana posible, bien sea al día 1 de vida en la nacedora o por spray en huevos, antes que en agua de bebida. Barrow & Tucker (1986) demostraron que mediante un pool de algunas cepas de *E. coli* administradas simultáneamente fueron capaces de excluir parcialmente la cepa desafío de *S. Typhimurium*, incluso en algún caso completamente.

- Exclusión bacteriológica: se cree que se debe a un mecanismo de depleción de nutrientes y fuentes de carbón, especialmente entre bacterias metabólicamente más cercanas. Aunque todavía no se sabe bien el mecanismo por el cual se produce este proceso, varios estudios realizados con este objetivo no han obtenido conclusiones.
- Competición por el sitio de unión en el epitelio intestinal: Se trata de un proceso físico de inhibición. Esta adhesión también puede ser inhibida bloqueando los receptores con adhesinas análogas específicas o con un obstáculo estéril cepas de *Lactobacillus*, las cuales se adhieren a las células intestinales y han demostrado inhibir la colonización de forma directa a su concentración. Esta competición ha sido demostrada con *Lactobacilos* viables, pero también con muertos por calor y con fragmentos de pared celular. Algunos estudios indican que la protección más eficaz requiere 24h, pero se ha visto que la protección en pollitos comienza un par de horas después de la administración de la cepa protectora (Van Immerseel *et al.*, 2005).

Por tanto, se ha visto tras la vacunación en pollitos de 1 día la producción de cantidades suficientes de anticuerpos específicos contra *Salmonella* spp. tarda más de 10 días, lo cual crea una ventana de susceptibilidad muy larga. Sin embargo, la administración oral de cepas vacunales vivas induce una protección temprana a las aves como resultado de su actividad de inhibición de la colonización previamente comentada (Van Immerseel *et al.*, 2005).

Vacunas inactivadas

Las vacunas inactivadas consisten en bacteria enteras que han sido inactivadas por métodos como calor, formalina o acetona entre otros (Desin *et al.*, 2013). La mayoría de las vacunas inactivadas se administran vía intramuscular o subcutánea normalmente 2 dosis. Son eficaces para reducir los niveles de *Salmonella* spp. en avicultura. A pesar de esto, se considera que las vacunas vivas tienen mayores ventajas que las muertas. Esto es debido, entre otras cosas, a que las vacunas vivas estimulan ambas respuestas inmunes (celular y humoral) y expresan mayor cantidad de antígenos. Por otro lado, las vacunas inactivadas sólo estimulan la respuesta inmune humoral y contienen únicamente los antígenos presentes en el momento del cultivo *in vitro* (Van Immerseel *et al.*, 2005).

Por otro lado, una de las principales ventajas de estas vacunas es que no representan una amenaza para la salud humana. Causan una elevada producción de anticuerpos y son eliminadas rápidamente de los hospedadores. Como desventajas expresan una menor cantidad

de antígenos que las vacunas vivas y causan menor respuesta inmune local (ciego) y celular (Desin *et al.*, 2013)

Vacunas de subunidad

Las vacunas de subunidad están compuestas por uno o varios antígenos (normalmente proteínas) de la bacteria. Estos antígenos normalmente están presentes en la superficie de la bacteria y tienen elevada importancia en su virulencia (Khan *et al.*, 2003). La mayoría de estas vacunas se administran vía intramuscular o subcutánea, aunque algunas se han formulado para vía oral. Sin embargo, tal como ocurre en el caso de las vacunas inactivadas, carecen de factores biológicos que estimulen el sistema inmune, por lo que son poco inmunogénicas y requieren de un adyuvante para generar una respuesta inmune suficiente (Desin *et al.*, 2013). En un estudio realizado por De Buck *et al.* (2005) se inmunizaron pollitos con el antígeno fimbrial (*Salmonella* type 1 fimbriae) y se observó que el número de *S. Enteritidis* en la cáscara de los huevos y órganos reproductivos se redujo, mientras que se encontraron niveles similares en el ciego, hígado y bazo en comparación a los no vacunados. Por lo que no ofrecen grandes resultados en comparación con las vacunas vivas atenuadas o las inactivadas en gallinas ponedoras.

La vacunación con bacterinas tampoco ha sido eficaz en reproductoras. Howard *et al.* (2018) demostró que la vacunación materna con bacterinas no causa una reducción significativa de la excreción de *Salmonella* en la progenie, aunque la mortalidad sí se reduce. Por tanto, a día de hoy, la mayoría de vacunas existentes en el mercado son vacunas vivas atenuadas o inactivadas, dado que son las que mejores resultados han ofrecido.

2. Plan vacunal en ponedoras y reproductoras

La gran mayoría de vacunas autorizadas solo lo están para su aplicación en la fase de recría, donde existen diferentes protocolos vacunales en función de la vacuna empleada, de los requisitos de los animales y los recursos económicos empleados (Tabla 10). Lo habitual en España es el uso combinado de ambos tipos de vacunas, administradas siguiendo un plan de 3 dosis en la recría, aunque algunas vacunas son solo de 2 dosis (Huberman *et al.*, 2019):

- 1ª dosis → Primera semana de vida
- 2ª dosis → A las 6 semanas de vida
- 3ª dosis → A las 13 semanas de vida. En caso de las reproductoras pesadas esta vacunación se produce sobre las 18 semanas aproximadamente, debido al comienzo más tardío de la puesta.

Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

Tabla 10. Vacunas autorizadas en España en enero de 2021 (Ministerio de agricultura, pesca y alimentación)

NÚMERO DE REGISTRO	DENOMINACIÓN DEL MEDICAMENTO	PRINCIPIOS ACTIVOS	TIPO VACUNA	VÍAS DE ADMINISTRACIÓN	TITULAR DE LA AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN	SITUACIÓN ADMINISTRATIVA DEL MEDICAMENTO	FECHA DE LA SITUACIÓN ADMINISTRATIVA
1541 ESP	NOBILIS SALENVAC T	SALMONELLA ENTERITIDIS INACTIVADA, CEPA PT4, SALMONELLA TYPHIMURIUM DT104 INACTIVADA CON FORMALIN	INACTIVADA	VÍA INTRAMUSCULAR	MERCK SHARP & DOHME ANIMAL HEALTH, S.L.	AUTORIZADO	02/02/2004
1646 ESP	AVIPRO SALMONELLA VAC E	SALMONELLA ENTERITIDIS VIVA ATENUADA, CEPA SM24/RIF12/SSQ	VIVA ATENUADA	ADMINISTRACIÓN EN AGUA DE BEBIDA	ELANCO GMBH	AUTORIZADO	01/09/2005
1680 ESP	AVIPRO SALMONELLA VAC T	SALMONELLA TYPHIMURIUM	VIVA ATENUADA	ADMINISTRACIÓN EN AGUA DE BEBIDA	ELANCO GMBH	AUTORIZADO	26/04/2006
1720 ESP	AVISAN SECURE	SALMONELLA ENTERITIDIS INACTIVADA, CEPA PT4, SALMONELLA TYPHIMURIUM INACTIVADA DT104	INACTIVADA	VÍA INTRAMUSCULAR	LABORATORIOS HIPRA, S.A.	AUTORIZADO	25/01/2007
1764 ESP	GALLIMUNE 5e+St	SALMONELLA ENTERITIDIS INACTIVADA, CEPA PT4, SALMONELLA TYPHIMURIUM DT104 INACTIVADA CON FORMALIN	INACTIVADA	VÍA INTRAMUSCULAR	BOEHRINGER INGELHEIM ANIMAL HEALTH ESPAÑA S.A.U.	AUTORIZADO	20/07/2007
1855 ESP	SALMOVAC 440 LIOFILIZADO PARA ADMINISTRACION EN AGUA DE BEBIDA	SALMONELLA ENTERITIDIS VIVA ATENUADA, CEPA 441/014 (MUTANTE DOBLE ATENUADA)	VIVA ATENUADA	VÍA ORAL	IDT BIOLOGIKA GMBH	AUTORIZADO	12/03/2008
2335 ESP	AVIPRO SALMONELLA DUO	SALMONELLA ENTERITIDIS VIVA ATENUADA, CEPA SM24/RIF12/SSQ, SALMONELLA TYPHIMURIUM, VIVA ATENUADA, CEPA NAL2/RIF9/RTT	VIVA ATENUADA	ADMINISTRACIÓN EN AGUA DE BEBIDA	ELANCO GMBH	AUTORIZADO	10/08/2011
3166 ESP	PRIMUN SALMONELLA E	SALMONELLA ENTERITIDIS VIVA ATENUADA, CEPA CAL 10 SM+/RIF+/SSQ-	VIVA ATENUADA	ADMINISTRACIÓN EN AGUA DE BEBIDA	LABORATORIOS CALIER, S.A.	AUTORIZADO	23/01/2015
3883 ESP	NOBILIS SALENVAC ETC.	SALMONELLA ENTERITIDIS SUBSP ENTERITIDIS INACTIVADA CEPA PT4, SALMONELLA ENTERITIDIS TYPHIMURIUM INACTIVADA CEPA DT104, SALMONELLA ENTERITIDIS INFANTIS INACTIVADA CEPA S1169	INACTIVADA	VÍA INTRAMUSCULAR	MERCK SHARP & DOHME ANIMAL HEALTH, S.L.	AUTORIZADO	23/04/2020
3636 ESP	NOBILIS SE VIVA LIOFILIZADO PARA ADMINISTRACIÓN EN AGUA DE BEBIDA PARA POLLOS	SALMONELLA ENTERICA, SUBSP ENTERICA SEROVAR ENTERITIDIS, VIVA ATENUADA, CEPA CAL 10 SM+/RIF+/SSQ-, 1-6 X 108 UFC	VIVA ATENUADA	ADMINISTRACIÓN EN AGUA DE BEBIDA	MERCK SHARP & DOHME ANIMAL HEALTH, S.L.	AUTORIZADO	01/01/2021

A día de hoy solo existe 1 vacuna autorizada en España para gallinas ponedoras durante la fase de puesta, que ha sido aprobada durante el segundo trimestre del año 2021. Esto se debe a que durante la fase de puesta existe el peligro de que estas cepas vacunales contaminen el huevo y puedan interferir en los programas de detección de *Salmonella* objetivo de control e incluso causar problemas en la salud humana, por lo que su autorización es muy estricta y está muy controlada. Sin embargo, los ciclos productivos son cada vez más largos y el uso de vacunas durante el periodo de puesta podría ayudar a un control más duradero de esta bacteria.

Hasta ahora tres tipos principales de vacunas han sido utilizados para el control de *S. Enteritidis* en la industria avícola: vacunas inactivadas, vacunas de subunidad y vacunas vivas atenuadas. Las vacunas inactivadas y las vacunas de subunidad pueden inducir una fuerte cantidad de anticuerpos para erradicar la bacteria extracelularmente, pero es complicado que estos anticuerpos puedan eliminar *S. Enteritidis* dentro de las células, lo que puede ser logrado con cepas vivas atenuadas de *Salmonella* spp. (Van Immerseel *et al.*, 2005).

3. Perspectivas de cara al futuro en la vacunación

Las nuevas investigaciones de cara a la producción de vacunas más eficaces frente a este patógeno se centran en la eliminación de la bacteria a nivel intracelular. Para eliminar las *Salmonellas* intracelulares, es de vital importancia estimular la respuesta inmune celular en los animales inmunizados. En los estadios tempranos de la infección, la respuesta inmune generada en las aves hospedadoras es tanto de tipo Th1 como Th2 para disminuir el crecimiento de la bacteria invasora. Pero a medida que avanza la infección esta respuesta cambia y pasa a ser principalmente Th2. A día de hoy se intentan buscar vacunas que sean capaces de estimular lo máximo posible y durante mayor tiempo la respuesta inmune Th1 (Li *et al.*, 2019). Por ello se están desarrollando investigaciones con vacunas DNA que se ha visto que inducen una elevada respuesta Th1, pero hasta el momento solo han sido probadas en ratones, en los que se han obtenido resultados satisfactorios en embriones, sugiriendo que podrían ser empleadas en vacunación *in ovo* (Desin *et al.*, 2013).

Algunos estudios recientes están evaluando la capacidad de algunas cepas de *S. Typhimurium* para vectorizar antígenos de otras bacterias como *Clostridium perfringens*, en uno de ellos, se vio que los animales vacunados no solo tenían menores niveles de enteritis necrótica, sino que también fueron protegidos frente a la colonización por *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis* (Jiang *et al.*, 2010). En cambio, otros estudios no obtuvieron resultados satisfactorios. La vacunación de pollos con un mutante de *S. Typhimurium* expresando el O-antígeno de *E. coli*

O78 LPS indujo anticuerpos contra el O-antígeno O78 LPS y contra *S. Typhimurium*, y creó cierto grado de protección contra la cepa desafío de *E. coli* O78 patogénica (Van Immerseel *et al.*, 2005). Las cepas de *S. Typhimurium* también han sido utilizadas como portadores de antígenos vía oral para dos cepas de *Eimeria tenella*. Sin embargo, la entrega de antígenos al sistema inmune no es suficiente *per se* para crear una respuesta inmune protectora. Una vacunación exitosa también requiere la estimulación de un apropiado tipo de respuesta inmune. (Van Immerseel *et al.*, 2005)

También se está evaluando la capacidad de adenovirus recombinantes como vectores vacunales de antígenos de *Salmonella* spp., mediante el uso de adenovirus humanos para evitar que la presencia de anticuerpos en las aves frente al adenovirus aviar pueda reducir la efectividad de la vacuna. Un vector viral recombinante que exprese antígenos protectores de *Salmonella* spp. puede ser muy beneficioso para la industria avícola, ya que puede generar inmunidad frente a múltiples enfermedades y tiene la gran ventaja de aplicarse *in ovo* (Desin *et al.*, 2013). Aunque hasta el momento solo se han probado en ratones.

c. Otras herramientas de control

Los Programas Nacionales de Control de *Salmonella* junto con las medidas de bioseguridad, protocolos de limpieza y desinfección, así como buenas prácticas de higiene, han logrado reducir la prevalencia de la bacteria a nivel de campo. Sin embargo, cada año se notifican nuevos casos de salmonelosis en personas, y se sigue detectando la presencia de la bacteria en las explotaciones avícolas. Por ello, se continúan buscando nuevas alternativas en la lucha contra la bacteria, como pueden ser el empleo de aditivos en el pienso, un buen manejo a nivel de campo o el uso de bacteriófagos

Los bacteriófagos son agentes víricos ubicuos en el ambiente que infectan y se replican en células procariontas. Estos virus atacan de forma específica a las bacterias, alterándolas y causando su destrucción (Sevilla-Navarro *et al.*, 2020a). Se han descrito al menos 170 fagos que infectan *Salmonella* spp., y estos generalmente se clasifican en 5 categorías basadas en sus secuencias genéticas. Su potencial se debe a su alta especificidad en la bacteria objetivo, su naturaleza autolimitante y su capacidad para atacar bacterias multirresistentes a antibióticos. La efectividad de los bacteriófagos depende de la bacteria, la concentración de bacteriófago, el mecanismo adaptativo de la bacteria y el número de aplicaciones (Sevilla-Navarro *et al.*, 2020a).

Los fagos se integran en los cromosomas del hospedador como un profago, donde pueden actuar en la expresión de factores del hospedador además de facilitar la transferencia de ADN entre bacterias a través de la traducción (Foley *et al.*, 2013). Generalmente, una vez los fagos insertan su genoma en la bacteria, utilizan su maquinaria celular para producir más fagos, los cuales acaban provocando la lisis celular (Grant *et al.*, 2017). Una de las principales ventajas de su uso es que son específicos para la bacteria en cuestión, por lo tanto su administración no afecta a la flora circundante. Además, se adhieren a la pared bacteriana contribuyendo a atenuar factores de virulencia, no causan alergias, no se han descrito efectos secundarios ni para los animales, las plantas o el medio ambiente; y se pueden utilizar como tratamiento preventivo o la higienización (Soriano del Castillo, 2015).

En un estudio realizado por Soriano del Castillo (2015) se avaló el efecto *in-vitro* de los bacteriófagos frente a una cepa de *S. Enteritidis* inoculada en heces frescas de gallina ponedora que previamente eran libres de *Salmonella* spp. Para ello se inocularon dos cepas a la muestra de heces, una cepa de cultivo y la otra de campo aislada en una explotación de gallinas ponedoras. La presencia de *Salmonella* spp. fue evaluada según pasados 1 minuto, 24 horas y 7 días. Los resultados demostraron que a las 24h de la adición de los bacteriófagos se redujo la presencia de *S. Enteritidis* en las muestras de heces.

Los bacteriófagos pueden utilizarse como antimicrobianos para tratar o evitar la infección de animales, pero también como una herramienta complementaria del proceso de limpieza y desinfección de las granjas avícolas. En un estudio realizado por Sevilla-Navarro *et al.* (2020a) para evaluar la eficacia de los bacteriófagos en la limpieza de instalaciones se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el número de aplicaciones de bacteriófagos y la reducción de *Salmonella*. En cambio, no se encontraron diferencias significativas entre la concentración de bacteriófagos y la reducción de *Salmonella*. Con diferentes concentraciones, la mayor reducción de los niveles de *S. Enteritidis* y *S. Infantis* se obtuvieron tras la 2ª dosis, no obteniendo diferencias frente a la 3ª dosis. Tras la aplicación de los bacteriófagos la mayor reducción de ambos serovares se observó tras el quinto día. Los resultados de este estudio muestran que *S. Infantis* y *S. Enteritidis* descienden del orden de $4.55 \log_{10}$ UFC/mL y $3.85 \log_{10}$ UFC/mL respectivamente de las superficies de las instalaciones de la granja después de dos aplicaciones de bacteriófagos. Resultados similares se obtuvieron previamente en un estudio de Woolston *et al.* (2013). En cambio, Fiorentin *et al.* (2005) sí que observaron reducciones significativas con el uso de una sola dosis de bacteriófagos, argumentado que la administración continua de bacteriófagos puede crear resistencia en *Salmonella* spp.

Para evitar el desarrollo de resistencia a los bacteriófagos se puede crear “cocktails” de bacteriófagos, cambiar los bacteriófagos utilizados en sucesivas aplicaciones, e incluso personalizar la terapia de fagos. Los diferentes bacteriófagos presentes en el “cocktail” pueden tener como objetivo diferentes receptores en la superficie de la bacteria, lo que reduce la posibilidad de que resistan a alguno de ellos. No obstante, la resistencia bacteriana frente a estos puede ocurrir, en estos casos cabe la posibilidad de producir auto-bacteriófagos frente a los serovares específicos aislados de campo (Sevilla-Navarro *et al.*, 2020a). Cabe recordar que hasta la fecha, aunque se comercializan diversos productos con bacteriófagos, no existen unas guías oficiales para la producción de los mismos y por eso su producción sigue todavía en desarrollo. Además, debido a la especificidad que tienen con la bacteria hospedadora las terapias de bacteriófagos no deben utilizarse en solitario, sino que deben ser combinadas con los protocolos de limpieza y desinfección.

En un estudio realizado por Sevilla-Navarro *et al.* (2020b) se analizaron un total de 141 granjas tanto de ponedoras como de broilers, para conocer la variedad de fagos existentes en función de los serovares de *Salmonella* aislados en las explotaciones. Y aunque no se detectó *Salmonella* spp. en ninguna granja, sí se detectaron bacteriófagos en todas ellas al menos para alguno de los 9 serovares incluidos en este estudio (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Typhimurium* variante monofásica, *S. Kentucky*, *S. Hadar*, *S. Seftenberg*, *S. Ohio*, *S. Infantis*, *S. Virchow*). En cuanto a los fagos detectados varían ligeramente en cada tipo de producción (ponedoras y broilers), obteniéndose los siguientes resultados (Tabla 11):

Tabla 11. Porcentajes de bacteriófagos frente a *Salmonella* aislados agrupados por serovares en cada tipo de producción (Sevilla-Navarro *et al.*, 2020b). SEM: Standard Error of the Mean

Strain	Poultry Production Type					
	Layers			Broilers		
n	(%)	SEM	n	(%)	SEM	
SE	101	94 ^E	0.024	30	91 ^{e,f}	0.050
ST	57	53 ^D	0.048	21	64 ^{d,e}	0.084
mST	34	31 ^B	0.045	2	6 ^b	0.042
SK	12	11 ^A	0.030	0	0 ^a	0.000
SH	12	11 ^A	0.030	17	52 ^{c,d}	0.087
SS	38	35 ^{B,C}	0.046	12	36 ^c	0.084
SO	47	44 ^{C,D}	0.048	25	76 ^e	0.075
SI	56	52 ^D	0.048	17	52 ^{c,d}	0.087
SV	51	47 ^D	0.048	32	97 ^f	0.030

En esta figura (Figura 9) se puede ver más claro cuáles son los tipos de fagos más frecuentes en cada tipo de producción en España. En las cuales la mayoría de datos suelen ser parecidos destacando las cepas *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* y *S. Infantis* y *S. Seftenberg*. Mientras que fagos frente a *S. Kentucky* solo fueron aislados en gallinas ponedoras.

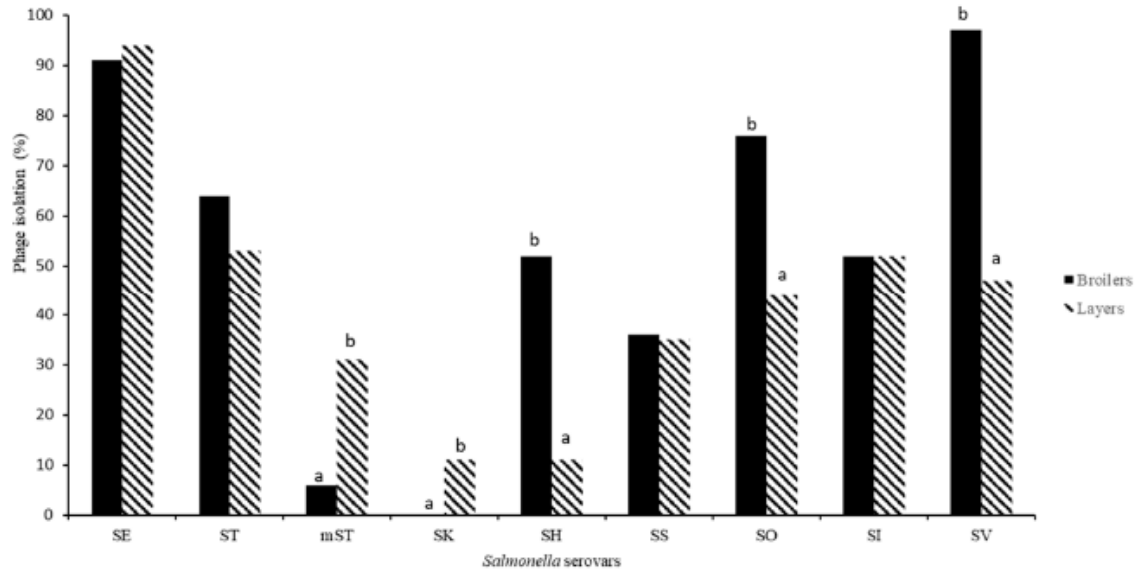


Figura 9. Porcentaje de fagos de *Salmonella* spp. frente a diferentes serovares según el tipo de producción (Sevilla-Navarro et al., 2020b).

Por tanto, estos resultados muestran que, aunque la bacteria no esté presente en las explotaciones los bacteriófagos específicos sí pueden permanecer allí. El hecho de que los bacteriófagos frente a *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* y *S. Typhimurium* en su variante monofásica fueran 3 de los fagos aislados más frecuentemente en las explotaciones puede ser explicado debido a las vacunas utilizadas en el marco de los PNCS en la Unión Europea. Las vacunas vivas mantienen las cepas vacunales en las aves, así como en las instalaciones, lo cual puede estimular la presencia de fagos a nivel de campo. Este hallazgo sigue la línea que marcan otros investigadores que sugieren que la presencia de fagos específicos de algún serotipo indica que ha habido presencia de dicho serotipo en el pasado, lo cual puede resultar una herramienta muy útil de detección indirecta del patógeno, basándose en la especificidad de los bacteriófagos (Sevilla-Navarro et al., 2020b).

Otra herramienta de control actualmente en investigación, es la selección genética de aves resistentes, mediante el aumento de la respuesta inmune celular y actividad de los heterófilos, localizando los genes encargados de para mejorar el sistema inmune de las aves. Aunque a día de hoy todavía no se considera una opción viable (Kaiser, 2010).

8.- CONCLUSIONES

- *Salmonella* spp. es la segunda causa más frecuente de toxiinfecciones alimentarias en el mundo. es una bacteria muy resistente en el ambiente y con un amplio rango de hospedadores. Los huevos y ovoproductos son los principales alimentos implicados en los brotes. *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* y su variante monofásica son los serotipos aislados más frecuentemente en gallinas ponedoras y reproductoras y relacionados con las toxiinfecciones humanas.
- Las medidas de control incluidas dentro del PNCS en gallinas reproductoras y ponedoras se basan la aplicación de estrictos protocolos de higiene y bioseguridad, la realización de controles oficiales y autocontroles, y la vacunación. Estas medidas han demostrado ser eficaces para el control de la bacteria, ya que han permitido una reducción muy importante de su prevalencia a nivel de campo.
- En los últimos años, los bacteriófagos se han contemplado como una técnica que puede reducir las cargas bacterianas de *Salmonella* spp., aunque este tratamiento también puede causar resistencia. Por tanto, la vacunación junto con la limpieza y desinfección y unas estrictas medidas de bioseguridad siguen siendo las medidas más efectivas y seguras para el control de la bacteria en avicultura.

9.-BIBLIOGRAFÍA

1. Agbaje, M., Begum, R. H., Oyekunle, M. A., Ojo, O. E., & Adenubi, O. T. (2011). Evolution of *Salmonella* nomenclature: A critical note. *Folia Microbiologica*, 56(6), 497-503. <https://doi.org/10.1007/s12223-011-0075-4>
2. Berchieri, A., Murphy, C. K., Marston, K., & Barrow, P. A. (2001). Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella* enterica serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: Effect of bacterial and host genetic background. *Avian Pathology*, 30(3), 221-231. <https://doi.org/10.1080/03079450120054631>
3. Brenner, F. W., Villar, R. G., Angulo, F. J., Tauxe, R., & Swaminathan, B. (2000). *Salmonella* Nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(7), 2465-2467. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.7.2465-2467.2000>
4. Campos, J., Sousa, C., Mourão, J., Lopes, J., Antunes, P., & Peixe, L. (2018). Discrimination of non-typhoid *Salmonella* serogroups and serotypes by Fourier Transform Infrared Spectroscopy: A comprehensive analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 285, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.07.005>
5. Carrique-Mas, J. J., Breslin, M., Snow, L., McLAREN, I., Sayers, A. R., & Davies, R. H. (2009). Persistence and clearance of different *Salmonella* serovars in buildings housing laying hens. *Epidemiology and Infection*, 137(6), 837-846. <https://doi.org/10.1017/S0950268808001568>
6. Carrique-Mas, J. J., & Davies, R. H. (2008). Sampling and bacteriological detection of *Salmonella* in poultry and poultry premises: A review: -EN- Repaso de los métodos de obtención de muestras y detección bacteriológica de Salmnella en aves de corral e instalaciones de producción avícola -FR- Etude sur l'échantillonnage et la détection bactériologique de *Salmonella* chez les volailles et dans les sites d'élevage -ES-. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*, 27(3), 665-677. <https://doi.org/10.20506/rst.27.3.1829>
7. Crippen, T. L., Sheffield, C. L., Esquivel, S. V., Droleskey, R. E., & Esquivel, J. F. (2009). The Acquisition and Internalization of *Salmonella* by the Lesser Mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 9(1), 65-72. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0103>
8. Davies, R. H., & Wray, C. (1995). Observations on Disinfection Regimens Used on *Salmonella* enteritidis Infected Poultry Units. *Poultry Science*, 74(4), 638-647. <https://doi.org/10.3382/ps.0740638>
9. Davies, R. H., & Wray, C. (1996). Studies of Contamination of Three Broiler Breeder Houses with *Salmonella* enteritidis before and after Cleansing and Disinfection. *Avian Diseases*, 40(3), 626. <https://doi.org/10.2307/1592274>

10. De Buck, J., Van Immerseel, F., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R. (2005). Protection of laying hens against *Salmonella* Enteritidis by immunization with type 1 fimbriae. *Veterinary Microbiology*, 105(2), 93-101. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.10.008>
11. Desin, T. S., Köster, W., & Potter, A. A. (2013). *Salmonella* vaccines in poultry: Past, present and future. *Expert Review of Vaccines*, 12(1), 87-96. <https://doi.org/10.1586/erv.12.138>
12. Desmidt, M., Ducatelle, R., Mast, J., Goddeeris, B. M., Kaspers, B., & Haesebrouck, F. (1998). Role of the humoral immune system in *Salmonella* enteritidis phage type four infection in chickens. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 63(4), 355-367. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(98\)00112-3](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(98)00112-3)
13. Dórea, F. C., Cole, D. J., Hofacre, C., Zamperini, K., Mathis, D., Doyle, M. P., Lee, M. D., & Maurer, J. J. (2010). Effect of *Salmonella* Vaccination of Breeder Chickens on Contamination of Broiler Chicken Carcasses in Integrated Poultry Operations. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(23), 7820-7825. <https://doi.org/10.1128/AEM.01320-10>
14. Ducatelle, R., & Van Immerseel, F. (2011). Management and sanitation procedures to control *Salmonella* in laying hen flocks. En *Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products* (pp. 146-162). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857093929.2.146>
15. European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control. (2021). The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 19(2). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6406>
16. Fiorentin, L., Vieira, N. D., & Barioni Jr, W. (2005). Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of *Salmonella* Enteritidis PT4 in caecal contents of broilers. *Avian Pathology*, 34(3), 258-263. <https://doi.org/10.1080/01445340500112157>
17. Foley, S. L., Johnson, T. J., Ricke, S. C., Nayak, R., & Danzeisen, J. (2013). *Salmonella* Pathogenicity and Host Adaptation in Chicken-Associated Serovars. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77(4), 582-607. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00015-13>
18. Gantois, I., Ducatelle, R., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Gast, R., Humphrey, T. J., & Van Immerseel, F. (2009). Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. *FEMS Microbiology Reviews*, 33(4), 718-738. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00161.x>
19. Gantois, I., Ducatelle, R., Timbermont, L., Boyen, F., Bohez, L., Haesebrouck, F., Pasmans, F., & van Immerseel, F. (2006). Oral immunisation of laying hens with the live vaccine strains of TAD *Salmonella* vac[®] E and TAD *Salmonella* vac[®] T reduces internal egg contamination with *Salmonella* Enteritidis. *Vaccine*, 24(37-39), 6250-6255. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.05.070>

20. Gast, R. K., Guraya, R., Jones, D. R., & Anderson, K. E. (2013). Colonization of internal organs by *Salmonella* Enteritidis in experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. *Poultry Science*, 92(2), 468-473. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02811>
21. Gindin, G., Glazer, I., Mishoutchenko, A., & Samish, M. (2009). Entomopathogenic fungi as a potential control agent against the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* in broiler houses. *BioControl*, 54(4), 549-558. <https://doi.org/10.1007/s10526-008-9205-6>
22. Gradel, K. O., Jorgensen, J. Chr., Andersen, J. S., & Corry, J. E. L. (2004). Monitoring the efficacy of steam and formaldehyde treatment of naturally *Salmonella*-infected layer houses. *Journal of Applied Microbiology*, 96(3), 613-622. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02198.x>
23. Grant, A., Parveen, S., Schwarz, J., Hashem, F., & Vimini, B. (2017). Reduction of *Salmonella* in ground chicken using a bacteriophage. *Poultry Science*, 96(8), 2845-2852. <https://doi.org/10.3382/ps/pex062>
24. Howard, A. J., Chousalkar, K. K., & McWhorter, A. R. (2018). In vitro and in vivo efficacy of a live attenuated *Salmonella* Typhimurium vaccine at preventing intestinal colonization in chicks. *Zoonoses and Public Health*, 65(6), 736-741. <https://doi.org/10.1111/zph.12479>
25. Huberman, Y. D., Velilla, A. V., & Terzolo, H. R. (2019). Evaluation of different live *Salmonella* enteritidis vaccine schedules administered during layer hen rearing to reduce excretion, organ colonization, and egg contamination. *Poultry Science*, 98(6), 2422-2431. <https://doi.org/10.3382/ps/pez003>
26. Husband, R. W., & Hasan, Md. M. (1998). A new Podapolipus (Acari: Podapolipidae) from *Alphitobius* spp. (Coleoptera: Tenebrionidae) from Bangladesh. *International Journal of Acarology*, 24(1), 53-57. <https://doi.org/10.1080/01647959808684127>
27. Jiang, Y., Kulkarni, R. R., Parreira, V. R., Poppe, C., Roland, K. L., & Prescott, J. F. (2010). Assessment of 2 Salmone. (s. f.).
28. Juneja, V. K., Valenzuela Melendres, M., Huang, L., Gumudavelli, V., Subbiah, J., & Thippareddi, H. (2007). Modeling the effect of temperature on growth of *Salmonella* in chicken. *Food Microbiology*, 24(4), 328-335. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.08.004>
29. Kaiser, P. (2010). Advances in avian immunology—prospects for disease control: A review. *Avian Pathology*, 39(5), 309-324. <https://doi.org/10.1080/03079457.2010.508777>
30. Kallapura, G., Morgan, M. J., Pumford, N. R., Bielke, L. R., Wolfenden, A. D., Faulkner, O. B., Latorre, J. D., Menconi, A., Hernandez-Velasco, X., Kuttappan, V. A., Hargis, B. M., & Tellez, G. (2014). Evaluation of the respiratory route as a viable portal of entry for *Salmonella* in

- poultry via intratracheal challenge of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium. Poultry Science, 93(2), 340-346. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03602>
31. Khan, M. I., Fadl, A. A., & Venkitanarayanan, K. S. (2003). Reducing colonization of *Salmonella* Enteritidis in chicken by targeting outer membrane proteins. Journal of Applied Microbiology, 95(1), 142-145. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01953.x>
 32. Lee, H.-J., Jeong, J.-Y., Jeong, O.-M., Youn, S.-Y., Kim, J.-H., Kim, D.-W., Yoon, J.-U., Kwon, Y.-K., & Kang, M.-S. (2020). Impact of *Dermanyssus gallinae* infestation on persistent outbreaks of fowl typhoid in commercial layer chicken farms. Poultry Science, 99(12), 6533-6541. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.035>
 33. Li, Q., Zhu, Y., Ren, J., Qiao, Z., Yin, C., Xian, H., Yuan, Y., Geng, S., & Jiao, X. (2019). Evaluation of the Safety and Protection Efficacy of *spiC* and *nmpC* or *rfaL* Deletion Mutants of *Salmonella* Enteritidis as Live Vaccine Candidates for Poultry Non-Typhoidal Salmonellosis. Vaccines, 7(4), 202. <https://doi.org/10.3390/vaccines7040202>
 34. Liebana, E., Garcia-Migura, L., Clouting, C., Clifton-Hadley, F. A., Breslin, M., & Davies, R. H. (2003). Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wildlife vectors in the maintenance of *Salmonella* Enteritidis infection in layer farms: *SALMONELLA* RESERVOIRS ON EGG PRODUCTION. Journal of Applied Microbiology, 94(6), 1024-1029. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01924.x>
 35. Matulova, M., Havlickova, H., Sisak, F., & Rychlik, I. (2012). Vaccination of chickens with *Salmonella* Pathogenicity Island (SPI) 1 and SPI2 defective mutants of *Salmonella* enterica serovar Enteritidis. Vaccine, 30(12), 2090-2097. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.01.050>
 36. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. (2018). Informe de zoonosis 2018. <https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/>. (s. f.).
 37. Mul, M., Van Niekerk, T., Chirico, J., Maurer, V., Kilpinen, O., Sparagano, O., Thind, B., Zoons, J., Moore, D., Bell, B., Gjevre, A.-G., & Chauve, C. (2009). Control methods for *Dermanyssus gallinae* in systems for laying hens: Results of an international seminar. World's Poultry Science Journal, 65(4), 589-600. <https://doi.org/10.1017/S0043933909000403>
 38. Oliveira, D. G. P., Bonini, A. K., & Alves, L. F. A. (2017). Field Assessments to Control the Lesser Mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) Using Diatomaceous Earth in Poultry Houses. Journal of Economic Entomology, 110(6), 2716-2723. <https://doi.org/10.1093/jee/tox287>
 39. Sevilla-Navarro, S., Catalá-Gregori, P., García, C., Cortés, V., & Marin, C. (2020). *Salmonella* Infantis and *Salmonella* Enteritidis specific bacteriophages isolated from poultry faeces as a complementary tool for cleaning and disinfection against *Salmonella*. Comparative

- Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 68, 101405.
<https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101405>
40. Sevilla-Navarro, S., Catalá-Gregori, P., & Marin, C. (2020). *Salmonella* Bacteriophage Diversity According to Most Prevalent *Salmonella* Serovars in Layer and Broiler Poultry Farms from Eastern Spain. *Animals*, 10(9), 1456. <https://doi.org/10.3390/ani10091456>
41. Soriano del Castillo, J. M. (2015). EMPLEO DE BACTERIÓFAGOS FRENTE A *SALMONELLA* ENTERITIDIS COMO. *NUTRICION HOSPITALARIA*, 6, 2740-2742.
<https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.6.8975>
42. Stenzel, T., Tykałowski, B. A. R. T. Ł. O. M. I. E. J., Mazur-Lech, B., & Koncicki, A. (2008). Infections in wildlife bi. (s. f.).
43. Valiente Moro, C., Chauve, C., & Zenner, L. (2007). Experimental infection of *Salmonella* Enteritidis by the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Veterinary Parasitology*, 146(3-4), 329-336. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.02.024>
44. Van Immerseel, F., Methner, U., Rychlik, I., Nagy, B., Velge, P., Martin, G., Foster, N., Ducatelle, R., & Barrow, P. A. (2005). Vaccination and early protection against non-host-specific *Salmonella* serotypes in poultry: Exploitation of innate immunity and microbial activity. *Epidemiology and Infection*, 133(06), 959.
<https://doi.org/10.1017/S0950268805004711>
45. Wales, A., Breslin, M., Carter, B., Sayers, R., & Davies, R. (2007). A longitudinal study of environmental *Salmonella* contamination in caged and free-range layer flocks. *Avian Pathology*, 36(3), 187-197. <https://doi.org/10.1080/03079450701338755>
46. Wales, A. D., Carrique-Mas, J. J., Rankin, M., Bell, B., Thind, B. B., & Davies, R. H. (2009). Review of the Carriage of Zoonotic Bacteria by Arthropods, with Special Reference to *Salmonella* in Mites, Flies and Litter Beetles. *Zoonoses and Public Health*.
<https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01222.x>
47. Waterman, S. R., & Holden, D. W. (2003). Functions and effectors of the *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system. *Cellular Microbiology*, 5(8), 501-511.
<https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2003.00294.x>
48. Whiley, H., & Ross, K. (2015). *Salmonella* and Eggs: From Production to Plate. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(3), 2543-2556.
<https://doi.org/10.3390/ijerph120302543>
49. Woolston, J., Parks, A. R., Abuladze, T., Anderson, B., Li, M., Carter, C., Hanna, L. F., Heyse, S., Charbonneau, D., & Sulakvelidze, A. (2013). Bacteriophages lytic for *Salmonella* rapidly

reduce *Salmonella* contamination on glass and stainless steel surfaces. *Bacteriophage*, 3(3), e25697. <https://doi.org/10.4161/bact.25697>

50. Zdragas, A., Mazaraki, K., Vafeas, G., Giantzi, V., Papadopoulos, T., & Ekateriniadou, L. (2012). Prevalence, seasonal occurrence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in poultry retail products in Greece: *Salmonella* seasonal resistance. *Letters in Applied Microbiology*, 55(4), 308-313. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2012.03298.x>

10.- ANEXOS

Anexo 1

Todos estos planes se basan en la realización de unos controles oficiales realizados por parte de la autoridad competente y unos autocontroles llevados a cabo por la propia empresa productora que deben ser realizados para detectar las manadas positivas. Se consideran manadas positivas a *Salmonella* spp. aquellas que:

- Se detecta uno de los serovares objeto de control de *Salmonella* determinados anteriormente, siempre que sea una cepa no vacunal, en cualquier muestra tomada de la manada.
- Se detecten restos o presencia de tratamientos antimicrobianos o inhibidores del crecimiento bacteriano.

Una vez una manada da positivo a un muestreo se considera positiva durante todo su periodo productivo. Ambos planes abarcan todos los estadios de las aves, desde la recría hasta adultas. No incluye explotaciones dedicadas a autoconsumo. Un apartado específico al que hacen referencia también estos planes son las medidas de bioseguridad, las cuales son revisadas al menos una vez al año conjuntamente con el control anual oficial.

Estos planes pretenden garantizar que se realice una vigilancia tanto por parte del operador como por parte de la autoridad. Más adelante se explica los controles oficiales y autocontroles que deben seguir las aves sujetas a estos programas de control. A partir del momento que el operador sepa de la existencia de un positivo, será el responsable de tomar las medidas oportunas recogidas en cada programa.

En el momento en que se haya confirmado el positivo a *Salmonella* spp. en una manada de gallinas ponedoras no se podrán seguir vendiendo los huevos para consumo en fresco hasta que no se descarte que se trata de un serovar objeto de control. En este momento el laboratorio emitirá, con la mayor brevedad posible, un informe de detección para informar de la detención de la bacteria. Seguidamente el laboratorio debe proceder al serotipado de la muestra, si este positivo no se debe a los serovares objeto de control las medidas impuestas serán retiradas.

Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

En caso de positivo frente a alguno de los serovares objetivo se aplicarán las siguientes medidas:

- Se buscará el origen de infección conforme a una encuesta epidemiológica adjuntada al programa
- Se bloqueará el movimiento de las aves tanto de salida como de entrada, solo se permitirá la salida de los mismos con destino matadero o destrucción.
- Los productos de estas aves tendrán una comercialización restringida con tratamientos que aseguren su inocuidad (ovoproductos) en caso de ponedoras. En reproductoras todas las aves de la manada serán sacrificadas y destruidas, incluyendo los pollitos de 1 día, para evitar mayor riesgo de propagación. Además, se destruirán también los huevos incubados procedentes de estas aves. Los huevos no incubados pueden utilizarse para consumo humano si se tratan de forma que se garantice la destrucción de *Salmonella*.
- Se revisarán las medidas de bioseguridad de la explotación y los autocontroles realizados por la explotación.
- Tras el sacrificio destrucción de las aves de la manada infectada se debe limpiar y desinfectar completamente las instalaciones, acompañado de una desinsectación y desratización de la misma. Antes de volver a introducir animales en las instalaciones se realizará una toma de muestras de las instalaciones para comprobar que se encuentra libre de *Salmonella*. El vacío sanitario tras la limpieza y desinfección debe ser de 12 días, pudiendo reducirse como máximo a 7 días si los resultados de los análisis realizados son satisfactorios.
- En el caso de las explotaciones de reproductoras pesadas donde se confirmase alguno de los cinco serovares de *Salmonella* además de las medidas anteriores, el siguiente lote que se introduzca deberá efectuarse con pollitas vacunadas con vacunas autorizadas o, en las condiciones previstas en la normativa vigente, con autovacunas, antes de comenzar la fase de puesta

En cambio, si el serotipo de *Salmonella* encontrado no es objetivo de dicho programa de control las únicas medidas que se llevarán a cabo serán la investigación epidemiológica de la fuente de la infección y el estricto control de las medidas de bioseguridad de las instalaciones.

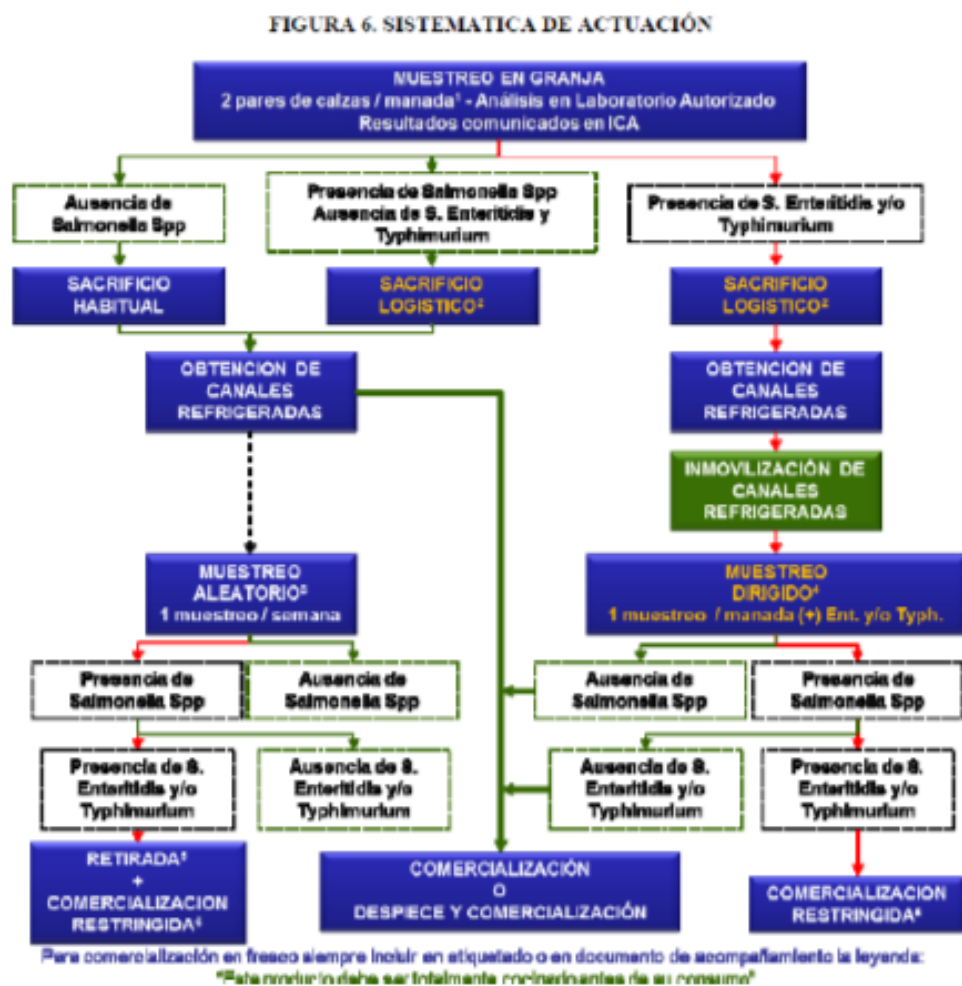


Figura 10. Diagrama de gestión de aves enviadas a matadero (PNCS gallinas ponedoras 2021)

En el caso de las gallinas ponedoras el programa obliga a la vacunación de todas las gallinas con programas frente a *S. Enteritidis* para reducir la excreción y contaminación de los huevos, a excepción de aquellas que la autoridad competente considere que tengan unas adecuadas medidas de bioseguridad, tengan implantado un plan de vigilancia y autocontrol de *Salmonella* y que hayan demostrado mediante análisis negativos en al menos los 12 últimos meses la ausencia de *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* y su variante monofásica. No obstante, esto no será posible si realizan cambios intracomunitarios de huevos para consumo humano. (Plan nacional de control de *Salmonella* en gallinas ponedoras).

Estas vacunas en gallinas ponedoras no podrán ser vacunas vivas durante la fase de puesta, al menos que se haya demostrado su seguridad y estén autorizadas para ese propósito. Además, todas las vacunas utilizadas deben poseer un método de diferenciación bacteriológico

Herramientas de control frente a *Salmonella* spp. en gallinas ponedoras y reproductoras

de las cepas de campo, sino tampoco podrán ser utilizadas. Esto nos permite en caso de un positivo en algún control oficial o autocontrol poder descartar que sea la cepa vacunal.

La vacunación en reproductoras no es obligatoria, pero en el caso de que se lleve a cabo, únicamente podrán utilizarse vacunas autorizadas, con la excepción comentada anteriormente en caso de que la manada anterior haya sido positiva, donde entonces sí se debe vacunar el nuevo lote obligatoriamente.

En España no se realizan muestreos en incubadoras, todos los muestreos se llevan a cabo en las explotaciones.