

SEGURIDAD ALIMENTARIA ANTES DEL SACRIFICIO Y MITIGACIÓN DE PATÓGENOS RESISTENTES A LOS ANTIMICROBIANOS.

James Allen Byrd

Dr.M.V., PhD. Director de Seguridad Alimentaria Avícola. Diamont V. USA.

Introducción

La Salmonella no tifoidea continúa siendo uno de los principales patógenos transmitidos por los alimentos, predominantemente relacionado con productos avícolas. En 1994, se estimó que hasta 33 millones de casos de enfermedades y 9,000 muertes fueron causadas por la ingestión de alimentos contaminados, incluyendo como causales a la Salmonella (USDA-FSIS, 1997). Los nuevos requisitos del gobierno Federal de los Estados Unidos están forzando a una reducción de los patógenos transmitidos por los alimentos en las aves de corral procesadas comercialmente en los Estados Unidos. Las razones para esto incluyen aumentar la presión de los grupos de interés público, los costos económicos para la población de los EE. UU. y las restricciones para la exportación de aves de corral a algunos países. El control de patógenos transmitidos por los alimentos continúan recibiendo atención de los medios y continúa influyendo en las agencias gubernamentales en estas investigaciones.

El inicio del programa de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP) del FSIS ha renovado el interés de la industria por el control de los patógenos transmitidos por los alimentos. El concepto HACCP ha generado un intenso registro y programas de muestreo, lo que ha influido en el desarrollo de soluciones potencialmente innovadoras. Si bien, la implementación de estrategias de intervención para reducir los patógenos transmitidos por los alimentos es el objetivo esencial, un gran número de variables y fuentes de patógenos transmitidos por los alimentos pueden limitar nuestra capacidad de producir pollos de engorde libres de patógenos. Los seres humanos, las aves silvestres, los roedores, los animales de granja y las mascotas son solo algunos ejemplos de posibles fuentes de estos patógenos. Sin embargo, con todas las fuentes potenciales de bacterias patógenas, aún es posible producir aves de corral libres de patógenos. Investigadores encontraron en 1998, que los pollos de engorde negativos a Salmonella que ingresaron a la planta de procesamiento seguirían siendo negativos siempre y cuando ninguno de los lotes anteriores procesados en el mismo día fueran positivos para Salmonella. Las estrategias de intervención antes de la recolección deben incluirse en un programa de control integrado total y que también debe incluir puntos de control críticos posteriores a la cosecha. El objetivo del presente documento es presentar varias estrategias que pueden incorporarse en el programa integral de control de patógenos.

Vacunación.

Los programas de vacunación se usan para prevenir o reducir la propagación de virus y bacterias patógenas. El programa de control ideal sería desafiar a un animal una o dos veces con una vacuna profiláctica y proporcionarle una protección total. La vacuna debe ser económica, estable y de fácil administración. La falta de alimento o agua y los factores ambientales

estresantes como el calor, pueden reducir la efectividad de las vacunas y por lo tanto, las mismas deben manejarse con cuidado. Los programas de aplicación de vacunas para el control de patógenos transmitidos por los alimentos aún se encuentran en una fase temprana de desarrollo. Las vacunas enumeradas a continuación son ejemplos representativos de las vacunas de tipo muerto o de tipo vivo disponibles.

Las vacunas de tipo muerto se preparan a partir de subunidades enteras o de bacterias o virus que han sido inactivados química o mecánicamente. Estamos muy seguros con la administración de vacunas de tipo muerta ya que requieren inyecciones individuales y generalmente se consideran seguras porque los microorganismos que la componen son incapaces de replicarse. La desventaja de las vacunas de tipo muerto es que incurren en un costo de mano de obra alto y daño tisular en el animal debido a la inyección y se ha demostrado que proporcionan una respuesta inmune mediada por células incompletas en comparación con las vacunas vivas. En un estudio que utilizó una vacuna de tipo muerto, se compararon un fago de *Salmonella enteritidis* tipo 4 muerto en acetona, en un adyuvante oleoso y una vacuna comercial disponible en gallinas ponedoras, contra *Salmonella enteritidis* (SE). Cada gallina recibió la vacuna dos veces durante un período de 4 semanas. Tres semanas después de la vacunación final, las aves fueron desafiadas con SE a 10⁸ CFU. Ambas vacunas redujeron el número de aves colonizadas intestinalmente. Además, la administración de vacunas redujo significativamente el número de organismos diseminados en las heces una semana después de la exposición. En estos estudios, se observó una reducción en el desprendimiento de materia fecal, pero más del 50% de las gallinas vacunadas aún arrojaron SE. Una razón por la que las vacunas de tipo muerto pueden proporcionar una protección incoherente es que la preparación de las vacunas puede destruir los antígenos requeridos para la estimulación del sistema inmune del huésped. Aunque se ha demostrado que las vacunas de tipo muerto son efectivas en aves de corral, las vacunas de tipo vivo generalmente proporcionan una protección más duradera, según la vía de administración.

La adherencia al tracto gastrointestinal del huésped de las vacunas de tipo vivo, se ha descrito como una ventaja sobre las vacunas de tipo muerto. Con este tipo de vacuna, los organismos completos se alteran para tener una capacidad de replicación reducida o una defensa reducida contra el sistema inmune del huésped

Al exponer a un ave a bacterias replicantes que son avirulentas puede estimular el sistema inmunitario a un nivel superior. Las vacunas de tipo vivo cuestan menos que las vacunas de tipo muerto, son más fáciles de administrar (pulverización) y provocan un inicio rápido de la inmunidad. Se ha informado sobre una vacuna comercial de tipo vivo con una delección de doble gen y que es avirulenta e inmunogénica. Se ha demostrado que los pollitos de día de nacimiento vacunados con esta vacuna de tipo vivo tienen protección serológica para los serotipos de *Salmonella* homólogos y heterólogos. Además, los anticuerpos maternos se pueden demostrar en huevos y polluelos de cría vacunados con esta vacuna. Se ha informado que estos anticuerpos reducen la colonización de salmonelas y brindan protección a las gallinas ponedoras hasta 11 meses después de la inoculación. Las desventajas de las vacunas de tipo vivo incluyen la uniformidad de la aplicación de la vacuna y el aumento de los requisitos de manejo necesarios para mantener los organismos de vacuna activa. Finalmente, como con todas las vacunas de tipo vivo, surgen preguntas sobre la posibilidad de que las bacterias mutantes cambien del estado avirulento a un estado virulento.

Tratamiento de desechos de orígenes químicos o biológicos

La camada dentro de una granja avícola proporciona un microambiente de bacterias que puede manipularse mediante el uso de aditivos químicos o biológicos. Se ha demostrado que la producción bacteriana de amoníaco causa un aumento del pH de la hojarasca, una mayor temperatura de la cama, independientemente de las tasas de ventilación. Se ha demostrado que los niveles de amoníaco de 25 ppm o más disminuyen la eficiencia alimenticia, aumentan la incidencia de enfermedades y son perjudiciales para los trabajadores de la granja. Además, los niveles elevados de amoníaco se han asociado con la defensa natural de las aves que causa una disfunción del sistema inmunitario, al tiempo que proporcionan un entorno más favorable para que las bacterias, virus y mycoplasmas patógenos puedan sobrevivir, causar enfermedades y disminuir el rendimiento de producción. Al proporcionar un entorno más favorable para las bacterias junto con la inmunosupresión causada por varias enfermedades (por ejemplo, Newcastle, *Mycoplasma gallisepticum*), las condiciones son ideales para la proliferación de *Salmonella* y otros patógenos transmitidos por los alimentos. Si el pH de la hojarasca se reduce por debajo de 5, las condiciones son desfavorables para la *Salmonella*. Para lograr esto, se puede agregar tratamiento químico a la camada para reducir el pH y reducir la producción de amoníaco. Tal tratamiento debe ser barato y seguro para los trabajadores de la granja. La disminución de la producción de amoníaco reduce la carga patógena y disminuye el efecto patogénico que se observa en el ave, produciendo así un animal más sano.

Varios aditivos químicos se han utilizado para disminuir la producción o la neutralización de amoníaco. Los ejemplos de estos productos químicos incluyen sulfato de aluminio, sulfato ferroso, ácido fosfórico, bisulfato sódico, ácido acético y antibióticos. Diferentes investigadores evaluaron varios tratamientos químicos para la utilización del amoníaco y la solubilidad del fósforo y descubrieron que el sulfato de aluminio era el mejor para reducir la volatilización del amoníaco seguido por ácido fosfórico, sulfato ferroso, bisulfato de sodio y sulfato ferroso de calcio. Todos los tratamientos redujeron significativamente el pH de la hojarasca en comparación con la camada de control. El sulfato de aluminio fue más eficaz para controlar la volatilización del amoníaco y la solubilidad del fósforo. Estos datos sugieren que el sulfato de aluminio tiene algunos posibles beneficios ambientales al reducir la escorrentía de fósforo en las aguas subterráneas; sin embargo, el costo inicial por tratamiento fue mayor en comparación con los otros tratamientos. En otro estudio, se demostró que el bisulfato de sodio era efectivo para controlar *Salmonella*, *Clostridium* y *Pasturella* en la hojarasca. Además, la aplicación de este producto fue efectiva en la acidificación de la hojarasca y extendió la vida de los insecticidas para el control de los escarabajos.

Exclusión competitiva.

Los pollitos comerciales recién eclosionados tienen un tracto gastrointestinal esencialmente estéril y son susceptibles a las bacterias patógenas. Una estrategia para prevenir la colonización de bacterias patógenas es establecer una flora intestinal normal tan pronto como sea posible para ayudar a combatir estos patógenos. La exclusión competitiva (CE) es la administración de una suspensión de excrementos fecales o cecales adultos sanos que se describió por primera vez en 1973. El efecto protector de CE se ha explicado por la competencia por los sitios de unión, la producción de ácidos grasos volátiles, la disminución del potencial de oxidación-reducción y la

competencia por los nutrientes. Los productos CE pueden consistir en cultivos en los que la composición bacteriana es conocida (definida) o desconocida (indefinida). Actualmente, en los Estados Unidos, actualmente hay una cultura CE definida y una cultura CE indefinida que fueron desarrolladas por el Servicio de Investigación Agrícola (USDA-ARS) del USDA. En ensayos de campo comerciales, ambos cultivos de CE fueron efectivos para controlar la colonización del colon por Salmonella, en pollos de engorde para el mercado. Los pollitos de un día de nacidos proporcionaron una dosis única de un cultivo CE definido, que tuvo una incidencia significativamente menor ($P < .05$) de recuperación de Salmonella (0%) en comparación con los controles no tratados (7%). De manera similar, los pollos de engorde de mercado proporcionaron una cultura de CE indefinida, en un procedimiento de dos pasos (pulverización en incubadora y vía agua potable en la colocación), tuvieron significativamente menos canales positivas a Salmonella antes del enfriamiento (6.7%) en comparación con los controles no tratados (12.8%). Se ha demostrado que un producto CE definido es eficaz para proteger a los polluelos contra la colonización en condiciones experimentales por Salmonella enteritidis (PT13, PT4), *S. gallinarum*, *S. typhimurium*, *Clostridium perfringens* y *E. coli* O157:H7.

El uso de productos CE puede ser un componente efectivo en un programa de control integrado. La eficacia de los productos de CE depende del volumen y la concentración de la dosis, así como del método de administración. Los cultivos CE a menudo consisten en organismos bacterianos que son sensibles a los componentes antimicrobianos; por lo tanto, los antimicrobianos pueden disminuir la efectividad del cultivo. Se debe considerar que los productos de CE no eliminarán los patógenos transmitidos por los alimentos, sino que deberían incluirse en un programa de control integrado completo.

Medicación.

El uso terapéutico y profiláctico de antibióticos para controlar Salmonella ha traído muchos debates. Los agentes antimicrobianos se usan regularmente para controlar los problemas de incubación e intentar prevenir y eliminar las infecciones por Salmonella enteritidis. Se ha informado que varios antibióticos aumentan la incidencia de la colonización de Salmonella suprimiendo el crecimiento de bacterias beneficiosas que pueden producir compuestos inhibidores de patógenos. El uso constante de niveles sub terapéuticos de antibióticos para promover el crecimiento puede conducir a aislados bacterianos resistentes a los medicamentos.

Retiro de alimento.

Se ha demostrado que la contaminación de la carcasa aumenta con las diferentes etapas de procesamiento. Las salmonelas son uno de los principales patógenos asociados con las enfermedades transmitidas por los alimentos debido a su capacidad para colonizar el tracto gastrointestinal de las aves de corral y otros animales. Después de la colonización del tracto gastrointestinal, las concentraciones más altas de Salmonella se encuentran en el ciego, la cloaca, el íleon y en menor medida, en el cultivo. Aunque el número de salmonelas tiende a ser más bajo en el cultivo en comparación con otras secciones del tracto gastrointestinal, se ha observado que el cultivo se rompe o gotea con mayor frecuencia que el ciego en pollos de engorde y se contamina con mayor frecuencia. Recientemente, nuestro laboratorio observó un

aumento significativo en la incidencia de Salmonella y Campylobacter en cultivos de pollos de engorde en el Mercado, después de la extracción del alimento. El aumento en la incidencia de ambos patógenos que ocurrió después de un período de abstinencia de 7 horas o más en camadas de pollos de engorde, sugiere que el procedimiento de extracción de alimento debe investigarse más con respecto al tiempo pasado en contacto con la hojarasca y del tiempo total que es retenido. Además, se sabe que prolongar los tiempos de abstinencia del alimento aumenta la fragilidad del tracto gastrointestinal de los pollos de engorde durante el procesamiento. El aumento en la incidencia de bacterias patógenas en los cultivos de pollos de engorde en el mercado ha fomentado la preocupación por la identificación de puntos críticos de control para la reducción de patógenos en las plantas comerciales.

Se ha demostrado que la privación de alimento cambia el microambiente en los cultivos al reducir el número de lactobacilos, disminuir la concentración de ácidos grasos volátiles y aumentar el pH del cultivo. Además, los cambios en el microambiente del cultivo durante la descomposición del alimento tienen el potencial de aumentar la expresión de genes de invasión de las bacterias patógenas requeridas para la colonización intestinal. Una forma de revertir el aumento del pH del cultivo debido a la extracción de alimento, sería volver a acidificar el cultivo. Actualmente, evaluamos el uso de ácido láctico al 0.5% en el agua potable durante un retiro simulado de 8 horas de alimento previo al transporte. Todos los pollos de engorde fueron desafiados con 10⁶ CFU Salmonella typhimurium (ST) por sonda oral 24 a 48 horas antes de la extracción de alimento (FW) en un total de 5 experimentos. ST se recuperó del 53% de los cultivos de control en comparación con el 31% de los cultivos tratados con ácido láctico. Las reducciones en la incidencia de recuperación también se asociaron con números reducidos de ST recuperados (por ejemplo, registro de control 1,45 ufc / cultivo, ácido láctico: 0,79 ufc / cultivo). En un estudio comercial adicional en la granja, se proporcionó a los pollos de engorde una solución de agua potable de ácido láctico al 0,44% durante un FW de 10 horas y cultivo pre-FW, cultivo post-FW y muestras de lavado previo a la congelación para la determinación de Campylobacter y Salmonella. La contaminación de los cultivos con Salmonella se redujo significativamente con el tratamiento con ácido láctico (2/50, 4%) en comparación con los controles (23/50; 46%).

Es importante destacar que la incidencia de aislamiento de Salmonella en enjuagues de canales antes del enfriamiento se redujo significativamente en casi 10 veces, pero la incidencia de aislamiento de Campylobacter solo se redujo en un 25% mediante el tratamiento con ácido láctico antes de la cosecha. Estos estudios sugieren que la incorporación de algunos ácidos orgánicos en el agua potable durante la extracción del alimento antes del transporte puede reducir la contaminación por Salmonella de los cultivos y las canales de los pollos de engorde durante el procesamiento.