



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA

**PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL CENTRO DE LA
REPÚBLICA (PROPAC)**

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**ANÁLISIS TEMPORAL DE LA PREVALENCIA, DISTRIBUCIÓN Y DIVERSIDAD
GENÉTICA DE *Salmonella enterica* EN CARNE DE POLLO**

TESIS

PRESENTA

IBQ. ALEJANDRO ALCARAZ GONZÁLEZ

DIRIGIDO POR

Dr. GERARDO MANUEL NAVA MORALES

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, DICIEMBRE DE 2016



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Maestría en Ciencias y Tecnología de Alimentos

ANÁLISIS TEMPORAL DE LA PREVALENCIA, DISTRIBUCIÓN Y DIVERSIDAD GENÉTICA DE
Salmonella enterica EN CARNE DE POLLO

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

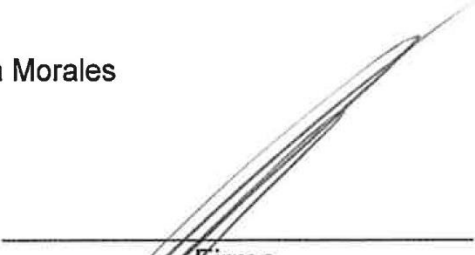
Presenta

IBQ. Alejandro Alcaraz González

Dirigido por

Dr. Gerardo Manuel Nava Morales

Dr. Gerardo Manuel Nava Morales
Presidente


Firma

Dra. María del Pilar Castañeda Serrano
Secretario


Firma

Dra. Montserrat Hernández Iturriaga
Vocal


Firma

Dra. Sofía María Arvizu Medrano
Suplente


Firma

Dr. Carlos Eslava Campos
Suplente


Firma


MPS. Sergio Pacheco Hernández
Director de la Facultad


Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario,
Querétaro, Qro.,
(Diciembre, 2016)

RESUMEN

La salmonelosis humana es un problema importante de salud a nivel mundial, y la carne de pollo ha sido considerada como uno de los principales vehículos. Sin embargo, existe poca evidencia de variación temporal en la prevalencia y diversidad de este patógeno en carne de pollo lista para ser expedida. El objetivo de este estudio fue conocer la prevalencia temporal de *S. enterica* en carne de pollo en puntos de venta en la ciudad de Querétaro. Un total de 3,312 piezas de pollo fueron procesadas para obtener 1,104 muestras (mezcla obtenida de 3 piezas: muslo y pierna). Las muestras fueron analizadas microbiológicamente usando el método sugerido por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Los aislados presuntivos a *S. enterica* fueron confirmados por ensayo molecular (amplificación por PCR de los genes *InvA* y *16S rRNA*). Los aislamientos fueron serotipificados mediante la amplificación, secuenciación y análisis molecular del gen *atpD*. El presente estudio reveló que la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo en la Cd de Querétaro fue de 15.94% (176/1,104). Además, que existe diferencias en la prevalencia mensual ($P < 0.05$), pero no estacional ($P > 0.05$) a lo largo de doce meses evaluados. Asimismo, que la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo fue más baja en mercado público [6.52%, (24/368)] comparado a supermercado [20.65%, (152/736)] ($P < 0.05$). De manera similar, la presencia de *S. enterica* en carne de pollo fue mayor en producto empaquetado de origen [19.56%, (72/368)] y a granel [21.73%, (80/368)] expedidos en supermercado, a diferencia, que la de granel vendida en mercado público [6.52%, (24/368)] fue más baja ($P < 0.05$). Además, no se identificó correlación entre la temperatura ambiental y la prevalencia temporal de *S. enterica* de carne de pollo. Por último el serovar más ocurrente durante todo el año fue Enteritidis. Y también se identificaron otros serovares como Anatum, Typhimurium, Heidelberg, Choleraesuis, Newport, Tennessee, Bredeney, Agona, Montevideo, Abaetetuba, Infantis y Thompson. Estos resultados identificaron la variación temporal del patógeno; si no además, permitirán construir una colección de aislamientos de *S. enterica* para estudios posteriores de fenotipificación y caracterización genética de *S. enterica* endémica en México.

Palabras claves: Prevalencia temporal, *S. enterica*, carne de pollo y serovariedades.

SUMMARY

Salmonellosis is a major health problem worldwide, and chicken meat has been considered as one of the main vehicles of this disease. Nevertheless, there is little evidence of temporal variation on the prevalence and diversity of *Salmonella enterica* in chicken meat ready to be dispatched. The aim of this study was to know the temporal prevalence of *S. enterica* in chicken meat at different sales facilities in Queretaro city. A total of 3,312 pieces of chicken meat were processed in order to obtain 1,104 samples (mixture obtained from 3 pieces: thigh and leg). The samples were microbiologically analyzed by using the methods suggested by the European Food Safety Authority. Subsequently the isolates with presumptive *S. enterica* were confirmed by a molecular assay (PCR amplification of the *InvA* and *16S rRNA* genes), and serotyped by amplification, sequencing and molecular analysis of the *atpD* gene. The present study revealed that there was a difference in the monthly prevalence ($P < 0.05$), while there was not in the seasonal prevalence ($P > 0.05$), over the eleven months evaluated. A correlation was identified between the temporal prevalence of *S. enterica* and the environmental relative humidity. Likewise, the prevalence of *S. enterica* was lower in chicken meat from public markets [6.52%, (24/368)] than supermarkets [20.65%, (152/736)]. In a similar way, the presence of *S. enterica* was higher ($P < 0.05$) in products packaged on origin [19.56%, (72/368)] and bulk [21.73%, (80/368)] dispatched in supermarkets, unlike the bulk sold in public markets [6.52%, (24/368)]. Finally the most occurring serovar throughout the year was Enteritidis. Other serovars such as Anatum, Typhimurium, Heidelberg, Choleraesuis, Newport, Tennessee, Bredeney, Agona, Montevideo, Abaetetuba, Infantis, and Thompson were also identified. These results have not only identified the temporal variation of the pathogen, but will allow the construction of a *S. enterica* isolates collection for later studies of phenotyping and genetic characterization of *S. enterica* endemic in México.

Key words: Temporal prevalence, *S. enterica*, chicken meat, and serovars.

DEDICATORIA

A mis padres, Juan y Rita

*Quienes debo mi formación personal y profesional
Además de brindarme su cariño, consejos y orientación*

A mi novia Myriam

*Quien ha estado conmigo en los momentos más turbulentos
Y me ha brindado su cariño y amor*

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado durante todo este trayecto.

A la Universidad Autónoma de Querétaro por brindarme todo el apoyo durante mi estancia.

A mis hermanos Juan y Mildred, por su comprensión y estímulo constante, además de su apoyo incondicional a lo largo de mis estudios.

A mi asesor, Dr. Gerardo Nava Morales, quien me brindo su valiosa orientación, paciencia, confianza y guía en la elaboración del presente trabajo de investigación.

A todos los miembros de mi comité, Dra. María del Pilar Castañeda Serano, Dra. Montserrat Hernández Iturriaga, Dra. Sofía María Arvizu Medrano y Dr. Carlos Eslava Campos por su valiosa contribución y sus conocimientos para la realización y mejoramiento del proyecto.

A mis compañeros de laboratorio, Yajaira, Elizabeth, Samanta, Cristina, Carolina, Ricardo, Rene, Eduardo, Gerardo de microbiología molecular por su amistad, compañía y ayuda en la parte de mi investigación.

A mis amigos de maestría Azucena, Beatriz, Karla, Pablo Dorantes y Pablo Márquez que gracias a su apoyo, y conocimiento hicieron de esta experiencia una de las más especiales

A todas las personas que en una u otra forma fueron parte de la realización de este trabajo.

INDICE GENERAL

RESUMEN	I
SUMMARY	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS	IV
INDICE GENERAL	V
ÍNDICE DE CUADRO	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1. Carne de pollo	2
2.1.1 Panorama a nivel mundial: demanda, producción y consumo per-capital. .	2
2.1.2 Producción y clasificación comercial en México	3
2.1.3 Obtención de la carne de pollo	5
2.1.4 Patógenos prevalentes en carne de pollo	6
2.2 <i>Salmonella</i>	8
2.2.1 Clasificación epidemiológica y serológica	8
2.2.2 Manifestación clínica.....	10
2.2.3 Epidemiología a nivel mundial	10
2.2.3.1 Epidemiología en México	11
2.2.4 Brotes y principales serovares asociados a la carne de pollo.....	11
2.2.5 Métodos para la detección de <i>S. enterica</i> en carne de pollo	12
2.2.5 Métodos para la detección de <i>S. enterica</i> en carne de pollo	13
2.2.5.1 Método convencional	13
2.2.5.2 Método molecular	13
2.2.6 Estudios de prevalencia de <i>S. enterica</i> en carne de pollo	15
2.2.6.1 Distribución temporal de la prevalencia de <i>S. enterica</i> en carne de pollo.....	16
2.2.6.2 Prevalencia distribuida en mercado y supermercado.....	17
2.2.7 Estándares de prevalencia de <i>S. enterica</i> en carne de pollo	18
3. JUSTIFICACIÓN.....	19

4. OBJETIVOS	20
4.1 Objetivo general	20
4.2 Objetivos específicos	20
5. METODOLOGÍA	21
5.1 Muestreo	21
5.2 Condiciones meteorológicas	22
5.3 Detección de <i>Salmonella</i> por el método convencional	22
5.3.1 Confirmación de <i>S. enterica</i> por métodos moleculares.....	23
5.4 Amplificación, secuenciación y análisis bioinformático del gen <i>atpD</i> en aislados de <i>S. enterica</i>	24
5.5 Análisis estadístico	25
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
6.1 Prevalencia mensual y estacional de <i>S. enterica</i> en carne de pollo expedida en puntos de venta.....	26
6.1.1 Prevalencia mensual de <i>S. enterica</i> en carne de pollo en puntos de venta.....	30
6.1.1.1 Correlación entre la temperatura ambiental y la prevalencia mensual de <i>S. enterica</i> en carne de pollo.....	32
6.1.2 Prevalencia estacional de <i>S. enterica</i> en carne de pollo	34
6.1.2.1 Correlación entre la temperatura ambiental y la prevalencia estacional de <i>S. enterica</i> en carne de pollo.....	36
6.1.3 Prevalencia de <i>S. enterica</i> por punto de venta	38
6.1.3.1 Prevalencia de <i>S. enterica</i> por producto empaquetado.....	40
6.1.4 Diversidad genética de <i>S. enterica</i> en carne de pollo en punto de venta .	42
6.1.4.1 Ocurrencia mensual de <i>S. enterica</i>	44
6.1.4.2 Ocurrencia estacional de <i>S. enterica</i>	45
6.1.4.3 Diversidad de <i>S. enterica</i> por punto de venta	47
6.1.4.3.1 Diversidad de <i>S. enterica</i> en producto empaquetado	49
7. CONCLUSIONES	51
8. ANEXOS	53
9. REFERENCIAS	55

ÍNDICE DE CUADRO

Cuadro		Pág.
1.	Composición nutricional de carne de res, cerdo y pollo.	2
2.	Características comerciales: tipo de producto de pollo	4
3.	Características de las especies y subespecies de <i>Salmonella</i>	9
4.	Reportes de <i>Salmonella</i> en México	11
5.	Reportes de brotes de <i>S. enterica</i> por consumo de pollo	12
6.	Prevalencia temporal de <i>S. enterica</i> en carne de pollo en puntos de venta	16
7.	Estudios temporales de <i>S. enterica</i> en puntos de venta	17
8.	Fechas de muestreos de carne de pollos en puntos de venta	21
9.	Prevalencia de <i>S. enterica</i> en carne de pollo a nivel mundial	26
10.	Prevalencia de <i>S. enterica</i> en carne de pollo en países que utilizan la metodología de la EFSA	29
11.	Correlación de Pearson entre temperatura ambiental y la prevalencia mensual de <i>S. enterica</i> en carne de pollo	33
12.	Correlación de Pearson entre la temperatura y la prevalencia estacional de <i>S. enterica</i>	33
13.	Serovariedades de <i>S. enterica</i> en base al análisis bioinformático	42
14.	Número de serotipos de <i>S. enterica</i> por puntos de venta durante un año evaluado	47
15.	Promedio de prevalencia anual de serovares de <i>S. enterica</i> por puntos de venta	48
16.	Número de serotipos de <i>S. enterica</i> por puntos de venta durante un año evaluado	49
17.	Promedio de prevalencia anual de serovares de <i>S. enterica</i> por origen de producto	50
A1	Prevalencia de <i>S. enterica</i> en carne de pollo alrededor del mundo	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1.	Proceso de muestreo	22
2.	Prevalencia mensual de <i>S. enterica</i> en carne de pollo	30
3.	Prevalencia mensual de <i>S. enterica</i> y su asociación con la temperatura ambiental	32
4.	Prevalencia estacional de <i>S. enterica</i> en carne de pollo	34
5.	Prevalencia estacional de <i>S. enterica</i> en carne de pollo y su temperatura ambiental	36
6.	Prevalencia de <i>S. enterica</i> en carne de pollo desde punto de venta	38
7.	Prevalencia de <i>S. enterica</i> en carne de pollo por origen de producto	40
8.	Ocurrencia mensual de serotipos de <i>S. enterica</i>	44
9.	Ocurrencia estacional de serotipos de <i>S. enterica</i>	45

1. INTRODUCCION

En México el 63% de la producción pecuaria total corresponde al sector avícola, del cual el 34.1% pertenece a carne de pollo. En 2015, la producción anual de carne de pollo en México fue de 3,175,010 toneladas y representó \$78,428 millones de pesos (M.N.). Sin embargo, la carne de pollo se ha asociado como uno de los principales vehículos de *S. entérica* para humanos. Este patógeno ocasiona dos tipos de enfermedades gastrointestinales: no tifoidea o tifoidea; con costos excesivos en el sector salud, y pérdidas en el sector productivo. *S. enterica* ha sido causante de 27 brotes en la UE entre el 2010 a 2011, y 145 brotes en EE.UU. durante 1998 al 2008. Siendo los principales serovares involucrados Infantis, Agona, Hadar, Mbandaka, Enteritidis, Typhimurium, Heidelberg y Kentucky.

En algunos países, se han realizado estudios temporales de prevalencia y distribución de *S. enterica* en carne de pollo. Estos estudios se enfocan en evaluar el manejo del producto en puntos de venta y evidenciar el desempeño del sistema de control de patógenos. Lamentablemente en México existen escasos estudios de prevalencia temporal y diversidad de serotipos de este patógeno.

En el presente trabajo se identificó la prevalencia, distribución y diversidad temporal de *S. enterica* en carne de pollo en puntos de la Cd. de Querétaro, Qro. México como primer esfuerzo científico para conocer la frecuencia de este patógeno en puntos de venta. Este trabajo no sólo nos permitirá conocer las variaciones temporales del patógeno; sino además, establecer una colección de aislamientos de *S. enterica* para estudios posteriores de caracterización genética y fenotípica de *S. enterica* endémica en México.

2. ANTECEDENTES

2.1. Carne de pollo

La carne se define como “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano” de acuerdo al (Codex Alimentarius, 2005). La carne se compone principalmente de agua, proteína, grasa, cenizas y valor energético, y varía de acuerdo al tipo de animal (**Cuadro 1**) (FAO, 2015).

La carne de pollo contiene ~22.8% de proteína y todos los aminoácidos esenciales requeridos en la dieta humana (Owens, 2010; FAO, 2015). Esta carne es considerada baja en grasa 0.9% al compararse con carnes rojas (**Cuadro 1**) (FAO, 2015).

Carne	Agua (%)	Proteínas (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)	Energía (KJ)
Res	54.7	16.5	28	0.8	323
Cerdo	41.1	11.2	47	0.7	472
Pollo	75	22.8	0.9	1.2	105

Cuadro 1. Composición nutricional de carne de res, cerdo y pollo.

*Datos en base de 100g. Fuente: Modificada de (FAO, 2015)

2.1.1 Panorama a nivel mundial: demanda, producción y consumo per-capital.

El nivel socioeconómico, la urbanización, las variaciones en las preferencias y los hábitos alimentarios de la población han generado un incremento del 70% en la demanda de carne de pollo desde 1995 hasta el 2013 en comparación a la carne de res 34% y cerdo 65% (Cerdeño, 2012; FAO, 2014). En el 2012, la producción de carne de pollo fue de ~104.6 millones de toneladas a nivel mundial (FAO, 2013). Se estima que esta industria tendrá un incremento anual del 1.8%, porcentaje mayor a la carne de (0.9%) y cerdo (1.5%) (FAO, 2013).

A nivel mundial EE.UU. es el principal productor de carne de pollo (17,971,000 toneladas/año), seguido por China (13,400,000 toneladas/año) y Brasil (13,146,000 toneladas/año) (UNA, 2016). México se posiciona en el séptimo lugar (3,175,000 toneladas/año) de producción de carne de pollo (UNA, 2016). Por otra parte, el principal consumidor per-cápita de carne de pollo es Kuwait (59.9 Kg), seguido de Malasia (51.3 Kg), Jamaica (47.8 Kg), Argentina (45 Kg), Brasil (43 Kg) y México (25.6 Kg) (UNA, 2016).

2.1.2 Producción y clasificación comercial en México

En el 2014, el sector pecuario mexicano generó 19,700,000 toneladas de alimentos (SAGARPA, 2015), del cual la industria avícola comprendió el 63%. Ésta última exhibió un crecimiento de 2.5%, respecto al 2015 (UNA, 2015). Dentro de la industria avícola, la producción de pollo aporta el 34.1%, el huevo el 29% y el pavo 0.10% (UNA, 2015).

En 2015, la producción anual de carne de pollo en México fue de 3,175,010 toneladas y se tradujo en \$78,428 millones (UNA, 2015). Los principales estados productores de carne de pollo en México son Querétaro, Aguascalientes y Veracruz con 336,600 toneladas producidas en cada uno (UNA, 2015).

El pollo se vende al consumidor como: pollo vivo, pollo rosticero, producto de valor agregado y piezas (SAGARPA, 2013; UNA, 2015). Cada tipo de producto es definido en base a su presentación, peso, lugar de comercialización y lugar de sacrificio (**Cuadro 2**) y estos productos se expiden principalmente en mercado público y supermercado (SAGARPA, 2013).

Tipo de producto	Descripción	Características	Comercialización	Sacrificio
Pollo vivo	Se selecciona al pollo vivo en el punto de venta, se mata al ave de modo artesanal y se le entrega al consumidor una canal "caliente" con vísceras.	Depende de la selección del consumidor	Punto de venta al mayoreo o menudeo	Rastros, ya sea TIF, privados o municipales
Rostizado	Se vende como producto listo para consumirse	35 días, con peso promedio entre 1.8 a 2.2 Kilogramos	En puntos de venta donde son cocinados	Rastros TIF, privados o municipales
Pieza	Aquellos cortadas y empacadas	-----	Principalmente mercado público y supermercado	Rastros TIF, privados o municipales
Valor agregado	Productos listos para consumirse y que van desde los marinados, hasta productos cocidos	-----	Principalmente mercado público supermercado y establecimientos fijos.	Rastros TIF, privados o municipales

Cuadro 2. Características comerciales: tipo de producto de pollo

Fuente: Modificado de SAGARPA, 2013a

2.1.3 Obtención de la carne de pollo

Recepción del pollo de engorda

En los mataderos, las aves se descargan y se transportan utilizando un sistema aéreo donde la ave se cuelga con ganchos, seguido de insensibilización que permite darle a la ave una muerte adecuada; el aturdimiento no mata al animal sino que le produce una taquicardia y continua con un corte que finaliza con el sacrificio de la ave (Obando P. *et al.*, 1998; Grüner *et al.*, 2005).

Escaldado

Este proceso es usado para abrir suficiente los folículos de la piel y facilitar la remoción de las plumas (Cox & Pavic, 2010). Esta etapa es realizada por inmersión de la canal en agua caliente (53 a 60 °C) (Yang *et al.*, 2001; Berrang *et al.*, 2011; SAGARPA, 2013a).

Desplumado

Consiste en retirar las plumas de la canal (Grüner *et al.*, 2005). Ésta es realizada por dedos automatizados u operadores (Canales *et al.*, 2006).

Eviscerado

Es la remoción de los cabeza y vísceras mediante el empleo de equipo automatizado u operadores (Obando *et al.*, 1998; SAGARPA, 2013a).

Lavado

También conocido como etapa previa al enfriamiento (pre-Chiller). Ésta etapa retira la mayor cantidad de restos de sangre y previene el incremento de la contaminación. El lavado es realizado por aspersion, después del eviscerado (Grüner *et al.*, 2005).

Enfriado de la canal

Este proceso aumenta la vida de anaquel del producto por reducir la carga de patógenos a bajas temperaturas (< 4°C) (SAGARPA, 2013a). El sistema de enfriamiento utiliza agua fría con alguna forma de cloración, el cual puede ser suministrado en varias formas; la industria avícola permite una concentración

menor o igual 50 ppm de cloro (García, 2006; FSIS, 2012). La eficiencia del enfriado de la canal está en función de la concentración de la materia orgánica, la concentración disponible de cloro y pH (Cox & Pavic, 2010).

Corte y despiece

Consiste en el desmembramiento de la canal que es realizado por equipos industriales u operadores para el expendio de piezas de ave (SENASICA, 2015a).

2.1.4 Patógenos prevalentes en carne de pollo

Los principales patógenos reportados en canal de pollo son *Salmonella* (Uyttendaele *et al.*, 1999; Kagambèga *et al.*, 2011; Hara-Kudo *et al.*, 2013) , *Campylobacter* (Baumgartner *et al.*, 2011; Ivanova, *et al.*, 2014) y *E.coli* (Burgess *et al.*, 2005). Estos patógenos colonizan el intestino de las aves y contaminan la canal de pollo durante el procesamiento avícola, destacando:

El escaldado. Bajo condiciones pobres (inadecuado tratamiento térmico y concentración elevadas de biomasa), el escaldado puede servir como como un sistema de enriquecimiento, que conlleva a que los patógenos proliferen y contaminen las canales que entran al tanque de escaldado (Yang *et al.*, 2010; Cox & Pavic, 2010; Berrang *et al.*, 2011).

El Desplumado. El contacto de dedos de goma y del operador pueden favorecer la contaminación cruzada (Canales, 2006).

La evisceración. Las canales pueden verse contaminadas por estos patógenos en la remoción o ruptura de vísceras durante el proceso (Obando *et al.*, 1998). También, el tipo de método (manual o automatizado) influye sobre la reducción de estos (Cox & Pavic, 2010); el lavado frecuente sobre la superficie operable que tiene contacto (operador o equipo) con la canal disminuyen la contaminación cruzada entre estas.

El lavado. Una baja presión del agua durante el lavado disemina los microorganismos hacia el interior de la canal. (Huezo *et al.*, 2007; SAGARPA, 2013).

El chiller. Inadecuados niveles de cloro y temperatura durante el Chiller favorecen la diseminación de microorganismos (Yang *et al.*, 2001).

Empaquetado. El inadecuado manejo del producto durante el empaquetado y el material utilizado para envolver puede inducir contaminación cruzada de patógenos en el producto terminado (Harrison *et al.*, 2001; Keklik *et al.*, 2010; Soltan *et al.*, 2014) .

2.2 Salmonella

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Es un bacilo Gram negativos aerobio o anaerobio facultativo, no esporulado, fermentador de glucosa, catalasa positivo, oxidasa negativo y generalmente móvil por flagelos peritricos (excepto *S. Gallinarum* y *Pullorum*) y presenta un tamaño aproximado de 2-3 µm x 0.4-0.6 µm (Pui *et al.*, 2011; WHO, 2013).

2.2.1 Clasificación epidemiológica y serológica

Desde una perspectiva epidemiológica el género *Salmonella* se clasifica en base a la preferencia por el huésped. El primer grupo incluye serovares que infectan solo a los seres humanos Typhi, Paratyphi A y Sendai. El segundo grupo comprende aquellos asociados a un huésped, pero pueden causar enfermedades en otros como el serovar *Pullorum* en aves. El tercer grupo se conforma de los serovares restantes que afectan a humanos y animales pero son menos severos que el grupo Typhi- Paratyphi A- Sendai (FDA, 2012a).

El esquema de Kauffmann-White clasifica el género *Salmonella* dentro de 3 determinantes antigénicos: H flagelar, O somático y K virulencia capsular (Vi) (Pui, *et al.*, 2011). El antígeno O, son lipopolisacáridos (LPS) de la membrana externa bacteriana, estables al calor, resistentes al alcohol y ácidos diluidos. Por otro lado, el H son proteínas lábiles al calor, y se encuentran asociados con los flagelos peritricos, mientras que el K son polisacáridos termolábiles unidos a las superficie de la capsula (Uzzau *et al.*, 2000).

Se han reportado 2,579 serovares de *Salmonella* distribuidos en 2 especies bacterianas, basado en la clasificación del gen *16S rRNA*. *Salmonella enterica* incluye 2,557 serovares, mientras que *Salmonella bongori* sólo engloba 22 serotipos (FDA, 2012a). A su vez, *S. enterica* se divide en seis subespecies: *enterica* (I, 1,531 serovares), *salamae* (II, 505 serovares), *arizonae* (IIIa, 99 serovares), *diarizonae* (IIIb, 336 serovares), *houenae* (IV, 73 serovares), e *indica* (VI, 13 serovares). Asimismo, se han reportado importantes diferencias fenotípicas intra e inter-especie en el género de *Salmonella* (**Cuadro 3**) (Uzzau *et al.*, 2000; WHO, 2007; Pui *et al.*, 2011; FDA, 2012a).

Especie	enterica						bongori
	Enterica	Salamae	Arizonae	diarizonae	Houtenae	Indica	
	<i>Características</i>						
Dulcitol	+	+	-	-	-	D	+
Malonato	-	+	+	+	-	-	-
Gelatinasa	-	+	+	+	+	+	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+
L(+) Tartrato	+	-	-	-	-	-	-
Galacturonato	-	+	-	+	+	+	+
α -glutamyltransferasa	+	+	-	+	+	+	+
β - glucuronidasa	D	D	-	+	-	D	-
Mucato	+	+	+	- (70%)	-	+	+
Salicina	-	-	-	+	-	+	-
Lactosa	-	-	- (75%)	+	+	D	-
Fago O1 susceptible	+	+	-	+	-	+	D
Hábitat usual	Animales de sangre caliente			Animales de sangre fría y medio ambiente			

Cuadro 3. Características de las especies y subespecies de *Salmonella*

(*)=Typhimurium d. Dublin -; + = 90% o más de reacciones positivas; - = 90% o más de reacciones negativas; D = dan diferente reacción por serovar. Fuente: Modificado de WHO, 2007

2.2.2 Manifestación clínica

En los seres humanos, *Salmonella* produce dos cuadros clínicos: fiebre tifoidea y no tifoidea. La infección tifoidea es producida principalmente por los serovares Typhi y Paratyphi (Dekker, *et al.*, 2015). Ésta infección presenta un mayor grado crónico que la no tifoidea y provoca la fiebre tifoidea (característica), que implica altas temperaturas (superiores a 39 °C), vómitos y dolor de cabeza; y en algunos casos bacteriemia primaria que puede ocurrir sin diarrea. También, se puede afectar el sistema cerebral (Capita, *et al.*, 2002; Pui *et al.*, 2011; Dekker, *et al.*, 2015).

La infección no tifoidea es causada aproximadamente por 150 serovares de *Salmonella* distinguiendo a Typhimurium y Enteritidis (Pui *et al.*, 2011; FDA, 2012a). Esta infección presenta generalmente diarrea asociada a fiebre, calambres abdominales y puede seguir un curso auto-limitante (FDA, 2012a; Dekker, *et al.*, 2015).

La dosis infecciosa de *S. enterica* depende del serovar y susceptibilidad del huésped; varía de 1 a 10⁹ UFC / g. Sin embargo, algunos brotes asociados al consumo de alimentos contaminados han sido provocados por consumo de 1 a 10 células de *S. enterica* (Escartín, 2000; Pui *et al.*, 2011; Scallan *et al.*, 2011).

2.2.3 Epidemiología a nivel mundial

La fiebre tifoidea representa una mortalidad del 5 al 30% a nivel mundial (Pui *et al.*, 2011). La Organización Mundial de la Salud estima 16 a 17 millones casos al año, que causan ~600,000 muertes. Las tasas de mortalidad de *S. enterica* varían por región geográfica, en EE. UU se ha reportado 13.6 por 100,000 personas, la Unión Europea (UE) 34.36 por 100,000 personas y Sur África 1.9 por 100,000 personas (Pui *et al.*, 2011).

Por otro lado, los casos de no tifoidea representan ~1.3 billones de casos y ~3 millones de muertes (Pui *et al.*, 2011; FDA, 2012). En el 2013, el CDC (Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de control, por sus siglas en inglés) estimó un costo total de ~3 billones de dólares por infecciones causadas

por *S. enterica* (no tifoidea), atribuido a atención médica y salarios por ausentismo en los EE UU (USDA, 2014). Mientras, en la UE tiene un costo total anual de 3 billones de euros (EFSA, 2011b).

2.2.3.1 Epidemiología en México

En México, el sector salud registra los casos de tifoidea, paratifoidea y otras salmonelosis (**Cuadro 4**) (Secretaria de salud, 2015). Entre los años 2010 y 2015, la Secretaria de Salud reportó 540,472 de Paratifoidea y 206,962 de Tifoidea, mientras, que en la categoría otras salmonelosis (no especificadas) se reportaron 42,186 casos (**Cuadro 4**).

Enfermedad	Años						Total
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	
Tifoidea	N.R	47,257	53,737	52,704	51,700	1,564	206,962
Paratifoidea	119,374	120,334	127,756	83,894	15,764	432	540,472
Otras salmonelosis				N.R	70,743	2,170	42,186

Cuadro 4. Reportes de *Salmonella* en México

N.R: No reportado; Fuente: Secretaria de Salud, 2015

2.2.4 Brotes y principales serovares asociados a la carne de pollo

A nivel mundial, el consumo de carne de pollo se ha asociado a diversos brotes de *S. enterica* (Pui *et al.*, 2011) (**Cuadro 5**). En los EE.UU, la CDC reportó para el periodo de 1998 al 2008, que *S. enterica* representa el segundo agente etiológico más prevalente en el país provocando 1,147 brotes, de los cuales 145 fueron asociados al consumo de productos avícolas, y a 2,580 casos (CDC, 2013b). Por otro lado, la EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, por sus siglas en inglés) que comprende de 27 miembros estatales en la UE, registró 3,105 brotes de salmonelosis, de los cuales, 27 fueron por el consumo de carne de pollo en el periodo 2010 al 2011 (EFSA, 2015).

La FDA (Administración de Drogas y Alimentos, por sus siglas en inglés) reportó que los serovares más prevalentes en la carne de pollo expedida en los EE.UU.

son: Kentucky , Enteritidis , Typhimurium y Heidelberg (FDA, 2012b). Mientras, que en la UE Infantis, Agona, Hadar, Mbandaka, Enteritidis y Typhimurium son los más reportados (EFSA, 2011).

País	Serovar	# Casos	Hospitalizados	Referencia
EE. UU	S. Heidelberg	634	241	CDC, 2014a
EE. UU	S. Enteritidis	9	3	CDC, 2015
EE. UU	S. Heidelberg	9	2	CDC, 2014b
EE. UU	S. Chester	47	16	CDC, 2013a
Inglaterra	S. Enteritidis fago 1	281	1	Mercado <i>et al.</i> , 2012
Honduras	S. Enteritidis	281	1	Montes <i>et al.</i> , 2004

Cuadro 5. Reportes de brotes de *S. enterica* por consumo de pollo

2.2.5 Métodos para la detección de *S. enterica* en carne de pollo

Los métodos convencionales y moleculares han sido desarrollados y utilizados para detectar, cuantificar y clasificar *S. enterica* en carne de pollo (Bell *et al.*, 2016).

2.2.5 Métodos para la detección de *S. enterica* en carne de pollo

Los métodos convencionales y moleculares han sido desarrollados y utilizados para detectar, cuantificar y clasificar *S. enterica* en carne de pollo (Bell *et al.*, 2016).

2.2.5.1 Método convencional

Los métodos convencionales son procedimientos que se basan en el aislamiento y caracterización fenotípica de *S. enterica* (FAO, 1997). Este método se realiza en aproximadamente 7 días (EFSA, 2009; Andrews *et al.*, 2014). La detección de *S. enterica* consiste en 5 pasos: pre-enriquecimiento, enriquecimiento selectivo, selección en medio sólido, identificación bioquímica y serotipificación (FAO, 1997; ISO, 2007). La principal metodología utilizada para la detección de *S. enterica* es la propuesta en la ISO 6579 (Microbiología de la cadena alimentaria - Método horizontal para la detección, enumeración y serotipificación de *Salmonella*) (ISO, 2007). La ISO 6579 ha sido modificada y adecuada en diferentes países para buscar mayor sensibilidad, especificidad y precisión en la detección de *S. enterica* (Champagne *et al.*, 2005; Koyuncu *et al.*, 2009; Eyigor *et al.*, 2010); entre algunos países cabe destacar a México (NOM-114-SSA1-1994), EE.UU (Andrews *et al.*, 2014) y la EU (Burfoot *et al.*, 2009). Las modificaciones y adecuaciones más comunes son la cantidad de muestra a analizar microbiológicamente, temperatura de incubación, uso de antibióticos, desarrollo y utilización de medios de pre-enriquecimiento, enriquecimiento y selectivo (Moats, 1978; Cox *et al.*, 2011).

2.2.5.2 Método molecular

Los métodos moleculares se utilizan para detectar, cuantificar, clasificar y rastrear el material genético (Somma, *et al.*, 2007). Estos métodos utilizan como base marcadores moleculares, los cuales son una secuencia de DNA o un gen (locus) en el genoma de un microorganismo y permite la distinción de diferentes especies o genotipos (Shi *et al.*, 2015). El NCBI (Centro Nacional de Información Biotecnológica, por sus siglas en inglés) contiene 1,275 genomas de la especie *S. enterica* (NCBI, 2015). Cada genoma en promedio posee 5,000 genes. Algunos de estos genes han sido utilizados como marcador molecular para la detección,

diferenciación de especies y serovares de *S. enterica* en alimentos, muestras ambientales, etc., (Lin *et al.*, 1995; Capita *et al.*, 2003; Trkov *et al.*, 2003; Chien-Ku *et al.*, 2004; Al-Adhami, *et al.*, 2008; Hellberg *et al.*, 2012; Dekker *et al.*, 2015). Entre los principales marcadores moleculares de *S. enterica* se encuentran:

- ARN ribosomal 16S (*16S rRNA*): Codifica para un complejo que forma parte de la subunidad 30S ribosomal bacteriano (NCBI, 2015). Este gen es implementado para detección y distinción de las especies de *Salmonella* (Lin *et al.*, 1995; Trkov *et al.*, 2003; Pui *et al.*, 2011).
- Proteína de invasión (*InvA*): Codifica para un complejo proteico que se encuentra en la membrana interna y realiza la invasión por a partir del aparato de secreción tipo III (NCBI, 2015). Este gen es utilizado para la detección de *S. enterica* (Bohaychuk *et al.*, 2006; Lu *et al.*, 2014; Osaili *et al.*, 2014; Radhika *et al.*, 2014).
- Subunidad β de la ATP Sintasa (*atpD*): Codifica para la subunidad β encargada de producir ATP a partir de ADP en presencia de un gradiente de protones a través de la membrana (NCBI, 2015). Este permite la distinción entre serotipos de la especie *S. enterica* (Christensen, *et al.*, 1998; Al-Adhami *et al.*, 2008).

2.2.6 Estudios de prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo

La prevalencia es una medida epidemiológica de la frecuencia de un patógeno o enfermedad en una población. Este concepto ha sido implementado como medición para conocer la presencia de patógenos en alimentos (Hanh *et al.*, 2006; Reiter *et al.*, 2007). La prevalencia es calculada en base al número de individuos que presentaron una característica (enfermedad o condición) entre el total en estudio por un tiempo determinado (Chap *et al.*, 1995). Existen 2 tipos de estudios de prevalencia: transversales y temporales de corte. El estudio transversal consiste en conocer la prevalencia en un tiempo específico (día, mes, anual, etc.) (Akbar *et al.*, 2013; Soltan *et al.*, 2014). El estudio temporal de corte consiste en evaluar la frecuencia de un patógeno a través de múltiples muestreos en un periodo de tiempo determinado (mes, estacional, anual, etc.) (Uyttendaele *et al.*, 1998; Zhao *et al.*, 2001).

Los estudios temporales de corte nos permiten conocer la variación en la frecuencia del patógeno en diferentes meses o épocas del año. Además, establecer asociaciones temporales que afectan la persistencia de la bacteria en matrices alimentarias (Zdragas *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2014). A pesar de su relevancia como herramienta epidemiológica, a nivel mundial, los estudios de prevalencia temporal de corte son limitados. En los últimos 15 años, se han publicado 15 estudios temporales de corte para evidenciar la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo.

2.2.6.1 Distribución temporal de la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo

El efecto temporal sobre la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo ha sido documentado en varios países (**Cuadro 6**), en los cuales se ha evidenciado efecto mensual, como por ejemplo Canadá y China identificaron mayor presencia de *S. enterica* en carne de pollo en el mes de Abril (Ravel *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2013). Mientras, el efecto estacional fue reportado en EE. UU. con la más alta prevalencia de este patógeno en Invierno (Zhao *et al.*, 2001). Estos estudios han especulado que tal efecto temporal se debe a cambios climatológicos llevados a cabo en la zona de muestreo, a la manipulación y almacenamiento del producto en punto de venta. Por lo que los estudios temporales de *S. enterica* en carne de pollo son una herramienta que nos permite conocer el comportamiento del patógeno en el tiempo, y asociar factores que afecten tal conducta. Asimismo, la acción de la prevalencia temporal de *S. enterica* en carne de pollo hacia la sociedad.

País	Muestreo	Mayor prevalencia	Referencia
Corea	Estacional	Verano	Lee <i>et al.</i> , 2016
China	Mensual	Julio	Huang <i>et al.</i> , 2015
China	Mensual	Agosto	Zhu <i>et al.</i> , 2014
China	Mensual	Abril	Wang <i>et al.</i> , 2013
Grecia	Estacional	Verano	Zdragas <i>et al.</i> , 2012
Australia	Mensual	Febrero	Fearnley <i>et al.</i> , 2011
Turquía	Estacional	Otoño	Iseri & Erol, 2010
Canadá	Mensual	Mayo	Ravel <i>et al.</i> , 2010
Chile	Estacional	No diferencia	Ulloa <i>et al.</i> , 2009
Nepal	Estacional	Primavera	Maharjan <i>et al.</i> , 2006
EE. UU	Estacional	Invierno	Zhao <i>et al.</i> , 2001

Cuadro 6. Prevalencia temporal de *S. enterica* en carne de pollo en puntos de venta

2.2.6.2 Prevalencia distribuida en mercado y supermercado

Se han documentado en varias partes del mundo la prevalencia de *S. enterica* en puntos de venta (**Cuadro 7**), con el fin de evidenciar el desempeño del programa control de patógenos (Harrison *et al.*, 2001; Burgess *et al.*, 2005) y el funcionamiento de la cadena de frío (Capita *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2015). En Reino Unido (Harrison *et al.*, 2001), China (Wang *et al.*, 2013) y Corea (Yoon *et al.*, 2014) han reportado una mayor prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo expedida en supermercados comparado con mercados públicos. Sin embargo, en Guatemala (Jarquin *et al.*, 2015) y Colombia (Donado-Godoy *et al.*, 2014) se ha reportado un escenario opuesto. A pesar de estas discrepancias, es evidente que la prevalencia de *S. enterica* es significativamente diferente en supermercados y mercados públicos.

País	Tiempo de muestreo	Lugar	n	Referencia
China	24 meses	Mercado público y supermercado	240	Huang <i>et al.</i> , 2015
China	12 meses	Mercado y supermercado	1,695	Zhu <i>et al.</i> , 2014
China	12 meses	Rastro, mercado y supermercado	240	Wang <i>et al.</i> , 2013
Grecia	24 meses	Mercado público	96	Zdragas <i>et al.</i> , 2012
Australia	31 semanas	Mercado público	356	Fearnley <i>et al.</i> , 2011
Turquía	12 meses	Mercado público	240	Iseri & Erol, 2010
Canadá	18 meses	Mercado público y supermercado	616	Ravel <i>et al.</i> , 2010
Irlanda	36 meses	Mercado público y establecimientos fijos	18,782	Jordan <i>et al.</i> , 2006
EE. UU.	14 meses	Supermercado	212	Zhao <i>et al.</i> , 2001

Cuadro 7. Estudios temporales de *S. enterica* en puntos de venta.

Tamaño de muestra (n)

2.2.7 Estándares de prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo

En EE.UU., el FSIS (Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria, por sus siglas en inglés), perteneciente a la USDA (Agencia del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, por sus siglas en inglés) establece los estándares de *S. enterica* en plantas de procesamiento avícola. La inspección se realiza durante todo el año y se colecta una muestra cada semana (~52 semanas, 1 por semana). En la canal de pollo, el límite máximo permitido corresponde a 5/51muestras positivas (7.5%). Mientras, que el máximo permitido para piezas de pollo es de 8/52 muestras positivas (15.4%) (FSIS, 2016).

Por otro lado, la UE, en su reglamento relativo a los criterios microbiológicos aplicables a canal de pollo, establece un límite máximo permitido de 14%, a partir de 10 muestreos con 5 muestras cada uno. Sin embargo, no se especifica la periodicidad de cada muestreo (Reglamento (CE) no. 2073, 2005).

En México, el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) establece estándares de *S. enterica* que evidencian el control de éste patógeno durante el sacrificio y el procesamiento avícola en establecimiento Tipo Inspección Federal (TIF). La inspección es basada en el método de la *FSIS-USDA*. La inspección se realiza durante todo el año y se colecta una muestra cada semana (~51 semanas, 1 muestra por semana). En la canal de pollo, el límite máximo permitido corresponde a 12/51muestras positivas (20%). Sin embargo, no existe un máximo permitido para piezas de pollo (SENASICA, 2015b).

3. JUSTIFICACIÓN

La carne de pollo es una de las principales fuente de proteína animal a nivel mundial por su costo, contenido bajo de grasa (0.9%) y alto valor proteico (22.8%). A nivel mundial, México ocupa el séptimo lugar como productor de esta carne, y el estado de Querétaro representa uno de los primeros lugares en producción nacional. Este sector productivo representa el 34.1% de la producción pecuaria nacional. Desafortunadamente, éste alimento ha sido asociado a numerosos brotes de salmonelosis en humanos.

En México, como en otros países, la información de la prevalencia temporal (mensual y estacional) de *S. enterica* en carne de pollo es escasa. Tampoco, se tiene suficiente información de la frecuencia mensual y estacional de este patógeno en supermercados y mercados públicos. Así como la diversidad de los diferentes serotipos endémicos del país. El objetivo del presente proyecto es generar dicha información. Estos datos serán fundamentales para establecer algunas asociaciones epidemiológicas entre mes, estación del año, condiciones atmosféricas ambientales y frecuencia del *S. enterica* en puntos de venta.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Conocer la variación temporal de la prevalencia, distribución y diversidad genética de *S. enterica* en carne de pollo expedida en mercado público y supermercado.

4.2 Objetivos específicos

- Conocer la prevalencia temporal y distribución de *S. enterica* en puntos de venta en las diferentes épocas del año
- Evaluar la correlación entre la temperatura ambiental y la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo expedida en puntos de venta
- Determinar la diversidad genética de los aislados de *S. enterica* mediante la amplificación, secuenciación y análisis bioinformático del gen *atpD*

5. METODOLOGÍA

5.1 Muestreo

La metodología de muestro para carne de pollo se basa en los métodos descritos por EFSA. Una muestra está constituida de la mezcla de piel de tres piezas de carne de pollo, muslo y pierna (25 gr de piel). Se realizaron 23 muestreos durante un periodo de 12 meses (**Cuadro 8**). Las muestras provinieron de cuatro supermercados y cuatro mercados públicos. En supermercados se colectaron 4 muestras empaquetadas de origen (empleado con marcas comerciales) y 4 muestras a granel (empleado marca propia del lugar de expendio) (**Figura 1**) en la ciudad de Santiago de Querétaro, Querétaro. Todas las muestras fueron transportadas 4°C al laboratorio de Inocuidad Microbiana de los Alimentos en la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ).

Muestreo	Fecha
1	5 de Noviembre del 2015
2	20 de Noviembre del 2015
3	3 de Diciembre del 2015
4	15 de Diciembre del 2015
5	11 de Enero del 2016
6	23 de Enero del 2016
7	10 de Febrero del 2016
8	26 de Febrero del 2016
9	25 de Marzo del 2016
10	07 de Abril del 2016
11	21 de Abril del 2016
12	12 de Mayo del 2016
13	26 de Mayo del 2016
14	14 de Junio del 2016
15	23 de Junio del 2016
16	5 de Julio del 2016
17	25 de Julio del 2016
18	4 de Agosto del 2016
19	16 de Agosto del 2016
20	6 de Septiembre del 2016
21	26 de Septiembre del 2016
22	6 de Octubre del 2016
23	24 de Octubre del 2016

Cuadro 8. Fechas de muestreos de carne de pollos en puntos de venta

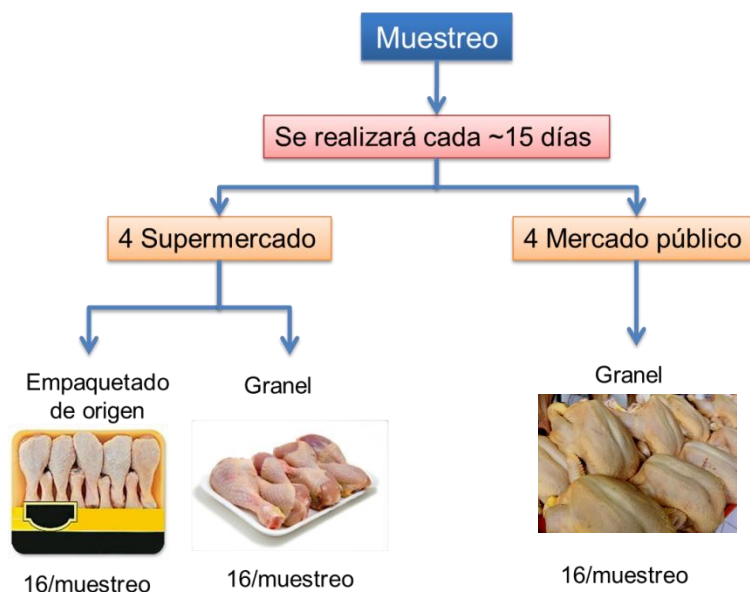


Figura 1. Proceso de muestreo

5.2 Condiciones meteorológicas

La temperatura (°C) fue proporcionada por la estación meteorológica de la Comisión Estatal del Agua (CEA) en la Ciudad de Santiago de Querétaro. La condición meteorológica correspondió al mismo periodo de muestreo en puntos de venta (1° de Noviembre del 2015 hasta el 31 de Octubre del 2016).

5.3 Detección de *Salmonella* por el método convencional

El aislamiento de *Salmonella* se llevó a cabo en base a la metodología descrita por la EFSA (Burfoot *et al.*, 2009), siguiendo los pasos enlistados a continuación:

- a) Pre-enriquecimiento: 25 g de piel de la muestra fueron añadidas a 225 mL de agua peptonada amortiguada (APA; peptona de carne 10g/L [*Bioxon*], NaCl 5g/L [*Meyer*], Na₂HPO₄ 7H₂O 9g/L [*Kara*], K₂HPO₄ 1.5g/L [*Kara*]), se homogenizó por 2 min en un Stomacher (L. Blender Stomacher 400) e incubó a 35 ± 2 °C por 24 h (Low temperatura INCUBATOR 815).
- b) Enriquecimiento: Se transfirió 0.1 mL y 1 mL del APA a 10 mL de Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV, *Difco*TM) y 10 mL de Caldo de Tetrionato (TT; *Difco*TM) respectivamente. El Caldo RV se incubó a 42 ± 2 °C por 24 h y el Caldo TT a 35 ± 2 °C por 24 h.

c) Selectivo: Se sembró una asada de los Caldos RV y TT sobre agar xilosa lisina desoxicolato (XLD, *BD*) suplementado con 10 ppm de novobiocina (+n, *Sigma-Aldrich*) e incubó a 35°C durante 24 h. Posteriormente, los aislados sospechosos a *Salmonella*, fueron sembrados dos veces más en XLD+n para obtener colonias puras. Después de la incubación se seleccionaron por lo menos 3 colonias de cada placa en base a la morfología típica de *S. enterica*. Finalmente, los aislados sospechosos se hicieron crecer en caldo soya tripticaseína (CST, *Dibico*) a 35 ± 1 °C por 24 horas. La prueba de urea fue llevada a cabo como tamizaje; se tomaron 100 µL del caldo CST, y se colocaron en 1 ml de urea (*Bioxon*) y se incubaron a 35 ± 1 °C por 24 horas. Aislamientos con reacción negativa a urea fueron almacenados en 1.2 ml de CST suplementado con 300 µL de glicerol (*Karal*) a -20°C.

5.3.1 Confirmación de *S. enterica* por métodos moleculares

Los aislados de *S. enterica* obtenidos por el método convencional se confirmaron mediante PCR. Para esto, el DNA fue extraído mediante el Kit Quick-gDNA™ miniprep siguiendo la metodología establecida por el fabricante. El DNA de los aislamientos fue utilizado la reacción de PCR mediante la amplificación de los genes *InvA* y *16S rRNA*. Para el gen *InvA* se utilizó los primers: Foward 5'-CTGTTGAACAACCCATTTGT-3' y Reverse 5'-CGGATCTCATTAAATCAACAAT-3' (*Liu et al.*, 2002). Mientras que para el gen *16S rRNA* se manejó los primers: Foward 5'-ACGGTAACAGGAAGMAG-3' y Reverse 5'-TATTAACCACAACACCT-3' (*Trkov et al.*, 2003). Las condiciones de PCR para el gen *InvA* fueron: una desnaturalización previa a 94°C por 3 min, seguida por 35 ciclos que comprende una desnaturalización a 94°C por 45 seg, una alineación a 57.4°C por 30 seg y una extensión a 72 °C por 30 seg; por último, se realizó una extensión final a 72°C por 5 min. Para el caso del gen *16S rRNA* las condiciones fueron: una desnaturalización previa a 94°C por 3 min, continuando por 32 ciclos que incluye una desnaturalización a 94°C por 20 seg, una alineación a 53°C por 30 seg y una extensión a 72 °C por 30 seg; finalmente, se realizó una extensión final a 72°C por 2 min. La reacción se llevó a cabo en un termociclador (TECHNE, T-512) y se

corrió un gel de agarosa (1.5%) en una cámara de electroforesis a 85 V por 20 min. El gel fue fotodocumentado con una cámara de video (Bio-Imaging System, MiniBis Pro, Dnr). Las muestras que presentaron ambos genes: *InvA* (~437 pb.) y *16S rRNA* (~ 402 pb) fueron consideradas positivas a *S. enterica*.

5.4 Amplificación, secuenciación y análisis bioinformático del gen *atpD* en aislados de *S. enterica*

La serotipificación molecular se llevó a cabo mediante la amplificación del gen *atpD*. Este gen codifica para la subunidad β de la ATP sintasa y sus análisis filogenético está directamente relacionado a la caracterización serológica (Christensen & Olsen, 1998; Tankouo-Sandjong *et al.*, 2007; Al-Adhami *et al.*, 2008). Para la amplificación del gen *atpD* se utilizó el par de iniciadores 5'-TAGTTGACGTCGAATTCCCTCAGG -3' y 5'-GGAGACGGGTCAGTCAAGTCATC -3' (Christensen & Olsen, 1998). Las condiciones de PCR fueron: una desnaturalización previa a 94°C por 3 min, seguido por 32 ciclos que envuelve una desnaturalización a 94°C por 20 seg, una alineación a 53.3°C por 25 seg y una extensión a 72 °C por 30 seg; por último, se realizó una extensión final a 72°C por 5 min. Se llevó a cabo la reacción en un termociclador (TECHNE, T-512) y se corrió un gel de agarosa (1.5%) en una cámara de electroforesis a 75 V por 25 min. El tamaño esperado del amplicón fue de ~890 pb. El gel fue fotodocumentado con una cámara de video (Bio-Imaging System, MiniBis Pro, Dnr). Los productos de PCR del gen *atpD* fueron enviados a GENEWIZ USA para ser secuenciados (ABI Prism 3730x) por el método de Sanger. Las secuencias del gen *atpD* fueron almacenadas en formato FASTA y clasificadas usando la herramienta BLAST del NCBI, en el cual en base al porcentaje de identidad, valor de E y cobertura de secuencia fue identificado el serotipo de *S. enterica* (Altschul *et al.*, 1990).

5.5 Análisis estadístico

La prueba Exacta de Fisher fue utilizada para analizar la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo de manera mensual (Iseri & Erol, 2010; Miranda *et al.*, 2009; Ozbey & Tasdemir, 2014; Ulloa *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2014). Para este método estadístico, la prevalencia temporal más alta fue considerada como prevalencia esperada, siguiendo las recomendaciones de otros estudios (Iseri & Erol, 2010; Ozbey & Tasdemir, 2014; Zhu *et al.*, 2014).

El método de comparación de pares y prueba de Wilcoxon fueron implementadas para analizar la prevalencia de *S. enterica* de manera estacional, la ocurrencia temporal de los serotipos, por punto de venta y por origen de producto (Bosilevac *et al.*, 2009; Elhadi, 2014; Zhu *et al.*, 2014; Hong *et al.*, 2016).

La correlación de Pearson fue utilizada para conocer asociaciones de la temperatura ambiental (máxima, promedio y mínima) con la prevalencia temporal (mensual y estacional) de *S. enterica* en carne de pollo (Kanistanon, 1997).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Prevalencia mensual y estacional de *S. enterica* en carne de pollo expedida en puntos de venta

Se evaluó la presencia de *S. enterica* en carne de pollo durante 12 meses en la Cd. de Querétaro, Qro; México. En general, para el periodo evaluado, la prevalencia de este patógeno en puntos de venta fue de 15.94% (176/1,104). Este nivel de contaminación de *S. enterica* en carne de pollo está dentro de los rangos comúnmente reportados en otras regiones del mundo (**Cuadro 9**). Por ejemplo, un análisis exhaustivo de reportes publicados en los últimos 15 años reveló que, a nivel mundial (36 países de América, África Asia y Europa), la mediana de la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo en punto de venta corresponde a 20.4%, mientras que el promedio es de 23.1% (**Cuadro 9 y A1**).

País	Muestra	n	Prevalencia, %	Referencia
Brasil	Canal	2,679	2.7	Medeiros <i>et al.</i> , 2011
China	Canal	1,595	41.6	Zhu <i>et al.</i> , 2014
Nueva Zelanda	Pierna, muslo, cuello, ala y pechuga	1,108	1.3	Wong <i>et al.</i> , 2007
México	Pierna y muslo	1,104	15.9	Este estudio
Vietnam	Pierna, cuello, muslo, ala y ala	1,000	45.9	Huong <i>et al.</i> , 2006
Reino Unido	Canal	877	4.0	Meldrum & Wilson, 2007
Rusia	Canal	698	31.5	Alali <i>et al.</i> , 2012
Bélgica	Canal	549	18.2	Uyttendaele <i>et al.</i> , 1999
Irlanda	Cuello	510	5.1	Madden <i>et al.</i> , 2011
China	Canal	480	33.8	Huang <i>et al.</i> , 2015
Japón	Canal	400	12.7	Hara-Kudo <i>et al.</i> , 2013

Cuadro 9. Prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo a nivel mundial

Número de muestras analizadas (n). Para el análisis microbiológico, la canal completa de pollo fue lavada con 300 ml o 400 de APA. Para los cortes de pollo, se colectaron 25 g de piel proveniente de 3 piezas y se incubaron con 225 ml de APA. El APA fue incubada durante 24 h a 37°C y posteriormente inoculado en caldo de enriquecimiento y medio selectivo siguiendo las recomendaciones de la EFSA y el FDA.

País	Muestra	n	Prevalencia, %	Referencia
Colombia	Canal	301	36.5	Donado-Godoy <i>et al.</i> , 2014
Guatemala	Canal	300	34.3	Jarquín <i>et al.</i> , 2015
Chile	Canal	280	1.8	Ulloa <i>et al.</i> , 2009
España	Pechuga, cuello, ala y pierna	226	22.7	Álvarez <i>et al.</i> , 2012
EE.UU.	Canal	212	4.2	Zhao <i>et al.</i> , 2001
Tailandia	Canal	209	5.2	Akbar & Anal, 2013
Irlanda	Pierna, muslo y ala	205	1.5	Soultos <i>et al.</i> , 2003
	Mediana	20.4		
	Media	23.1		

Continuación

Cuadro 10. Prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo a nivel mundial

Número de muestras analizadas (n). Para el análisis microbiológico, la canal completa de pollo fue lavada con 300 ml o 400 de APA. Para los cortes de pollo, se colectaron 25 g de piel proveniente de 3 piezas y se incubaron con 225 ml de APA. El APA fue incubada durante 24 h a 37°C y posteriormente inoculado en caldo de enriquecimiento y medio selectivo siguiendo las recomendaciones de la EFSA y el FDA.

En México, solamente existen dos estudios de prevalencia temporal de *S. enterica* en carne de pollo. Miranda y colaboradores realizaron muestreos quincenales durante 19 meses en el estado de Hidalgo. Utilizando mezclas de piel de pierna, pechuga, ala y cuello, obtuvieron una prevalencia del 35% (41/116) (Miranda *et al.*, 2009). En Yucatán, Zaidi y colaboradores realizaron 12 muestreos mensuales de canal de pollo y estimaron una prevalencia de *S. enterica* del 39% (115/295) (Zaidi *et al.*, 2006). Esta prevalencia es mayor a la observada en el presente estudio.

Las diferencias observadas en los reportes nacionales e internacionales pueden corresponder a variaciones de prevalencia por zona geográfica. Por ejemplo, un estudio realizado por Zhu y colaboradores relevó diferencias significativas en prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo analizada en tres regiones de China. En Beijing (norte de China) se observó una prevalencia del 49.9% (197/395), mientras que en Guangdong (Sur de China) fue del 38.3% (92/240) y Shanxi (norte de China) fue del 32.9% (79/240) (Zhu *et al.*, 2014).

Las discrepancias en la presencia de *S. enterica* también se puede asociar a las distintas metodologías de muestreo y protocolos microbiológicos utilizados, como se ha documentado en diversos estudios (Cudjoe *et al.*, 1994; Uyttendaele *et al.*, 1998; Worcman-Barninka *et al.*, 2001; Cox *et al.*, 2011).

El tamaño del muestreo también podría ser otro factor asociado a la discrepancia en las prevalencias de *S. enterica* en carne de pollo. Se ha documentado que un estudio temporal de prevalencia, para ser considerado robusto y representativo, debe incluir >400 muestras (Wong *et al.*, 2007; Meldrum & Wilson, 2007; Cox *et al.*, 2011; Medeiros *et al.*, 2011; Alali *et al.*, 2012). Por lo tanto, los resultados obtenidos en el presente análisis temporal de prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo son considerados como confiables para establecer un marco de referencia de la calidad microbiológica de la carne de pollo en México.

En el 2011, Cox y colaboradores publicaron una de las revisiones más influyentes en el tema (Cox *et al.*, 2011). En este documento señala que el uso de diferentes tipos de muestra (canal o piezas de pollo) y distintas metodologías microbiológicas para el análisis de *S. enterica* no permite la comparación de resultados entre los diferentes estudios a nivel mundial. Para solucionar esta limitante, la EFSA ha optado por establecer un método microbiológico único para los estudios de prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo, el cual se implementa en todos los países de la Unión Europea (EFSA, 2015). En el presente estudio, también se implementó la metodología establecida por la EFSA. En consecuencia, nuestros resultados pueden ser comparables con los datos obtenidos en esta región del mundo. Una revisión exhaustiva de la literatura de estudios de prevalencia, en canal o piezas de pollo que utilizan la metodología de la EFSA, reveló que la mediana y media de la prevalencia de *S. enterica* en puntos de venta es de 3.6% y 8.75%, respectivamente (**Cuadro 10**). Por lo tanto, los niveles de contaminación por *S. enterica* observados en el presente estudio están dentro de los niveles reportados en países europeos.

País	Pieza	n	Prevalencia (%)	Referencia
Austria	Canal	2	50.0	EFSA, 2014
Corea	Canal	210	22.4	Kim et al., 2012
México	Pierna y muslo	1,104	15.9	Este estudio
Reino Unido	Pierna, pechuga, ala y cuello	110	15.0	Harrison <i>et al.</i> , 2001
Etiopia	Canal	104	7.7	Molla <i>et al.</i> , 2004
Bélgica	Canal	418	4.8	EFSA, 2010
Alemania	NE	429	4.6	EFSA, 2014
Francia	Canal	361	3.6	EFSA, 2010
Vietnam	Hígado	907	3.09	Hanh <i>et al.</i> , 2006
Egipto	Pierna	160	1.5	Ahmed & Shimamoto, 2014
Suiza	Canal	179	1.1	EFSA, 2006
Jordania	Canal	478	0.8	Osaili <i>et al.</i> , 2014
Irlanda	Cuello de canal	117	0	EFSA, 2012
Islandia	Cuello de canal	86	0	EFSA, 2014
Portugal	Canal	5	0	EFSA, 2014
		Mediana	3.6	
		Media	8.75	

Cuadro 11. Prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo en países que utilizan la metodología de la EFSA.

Número de muestras analizadas (n). Para el análisis microbiológico, la canal completa de pollo fue lavada con 300 ml o 400 de APA. Para los cortes de pollo, se colectaron 25 g de piel proveniente de 3 piezas y se incubaron con 225 ml de APA. El APA fue incubada durante 24 h a 37°C y posteriormente inoculado en caldo de enriquecimiento y medio selectivo siguiendo las recomendaciones de la EFSA.

En algunos países se han establecido límites de contaminación para piezas de pollo. En EE. UU., la FSIS ha establecido un límite de *S. enterica* en piezas de pollo del 15.4% (FSIS, 2016). Mientras, que en la UE, el reglamento microbiológico # 2073 de la EFSA, establece un límite de presencia de *S. enterica* en canal de pollo del 14% (9/50) (Reglamento no. 2073, 2005). Usando nuestro estudio como marco de referencia, los resultados obtenidos indican que se requiere un mayor

esfuerzo para mejorar la sanidad de la carne de pollo expedido en puntos de venta en la Cd. de Querétaro.

6.1.1 Prevalencia mensual de *S. enterica* en carne de pollo en puntos de venta

El nivel de contaminación de *S. enterica* en carne de pollo expedida en puntos de venta fue evaluada durante 12 meses, de Noviembre 2015 a Octubre 2016. Se observaron diferencias significativas en la prevalencia de *S. enterica* a lo largo del año. La prevalencia más alta se observó en el mes de Enero [26.04% (25/96)], seguida de Abril [23.95%, (23/96)], Febrero [22.91%, (22/96)], Julio [18.75%, (18/96)] y Noviembre [17.70%, (17/96)] ($P > 0.05$); y las más bajas en los meses de Diciembre [5.20% (5/96)], Marzo [10.41% (5/48)], Mayo [15.625% (15/96)], Junio [15.625% (15/96)], Agosto [10.41% (10/96)], Septiembre [7.29% (7/96)] y Octubre [14.58% (14/96)] ($P < 0.05$, **Figura 2**).

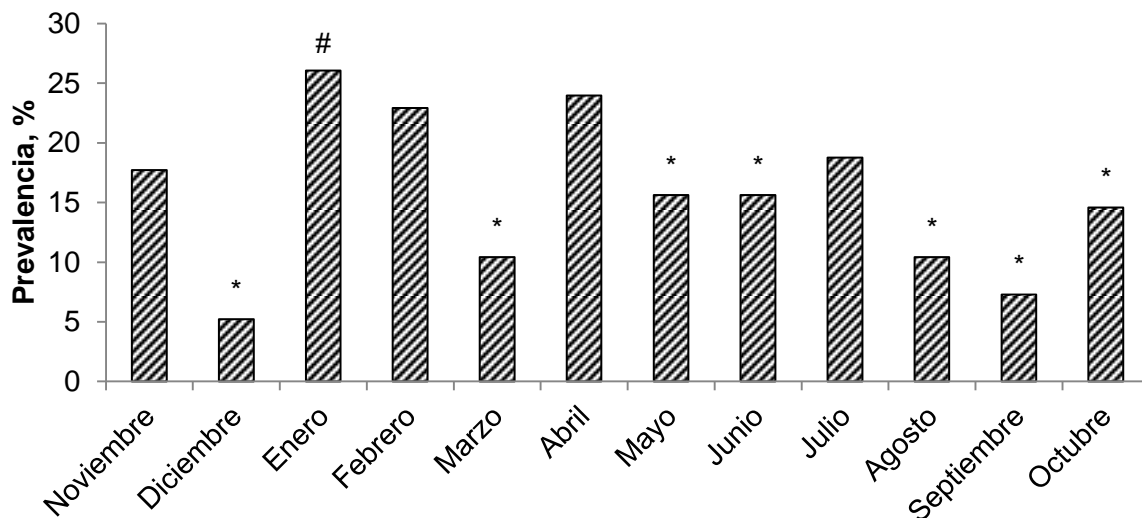


Figura 2. Prevalencia mensual de *S. enterica* en carne de pollo

La mayor prevalencia mensual (#) fue comparada con los otros meses usando la prueba exacta de Fisher. Barras marcadas con asterisco, son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$) a la mayor prevalencia mensual. Para cada mes el tamaño de muestra fue de 96; excepto Marzo ($n = 48$ muestras).

Variaciones mensuales en la prevalencias de *S. enterica* también han sido reportadas en un estudio realizado en China por Zhu y colaboradores. Estos autores observaron prevalencias más altas en Agosto [50%, (5/10)], mientras, que en Enero [25%, (3/12)], Febrero [30%, (3/10)] y Diciembre [30%, (3/10)] fueron las más bajas (Zhu *et al.*, 2014). En contraste, estudios realizados en EE. UU (Zhao *et al.*, 2001), Canadá (Ravel *et al.*, 2010) y Australia (Fearnley *et al.*, 2011) no observaron diferencias mensuales en la prevalencia de este patógeno. Se ha sugerido que los niveles constantes de *S. enterica* en estos países se deben a las estrictas medidas sanitarias para el procesamiento y venta de carne de pollo.

6.1.1.1 Correlación entre la temperatura ambiental y la prevalencia mensual de *S. enterica* en carne de pollo

Algunos estudios han establecidos una asociación entre incremento de temperatura y prevalencia de casos de salmonelosis en humanos (Kovats *et al.*, 2004; Patrick *et al.*, 2004; Akil *et al.*, 2014). Basado en esta premisa, en el presente estudio se analizó la asociación de la temperatura y prevalencia de *S. enterica* en puntos de venta en carne de pollo expedida en punto de venta. El análisis de correlación de Pearson reveló que no existe ($P > 0.05$) una asociación entre la temperatura ambiental (máxima, promedio y mínima) y prevalencia mensual de *S. enterica* en carne de pollo (**Figura 3** y **Cuadro 11**).

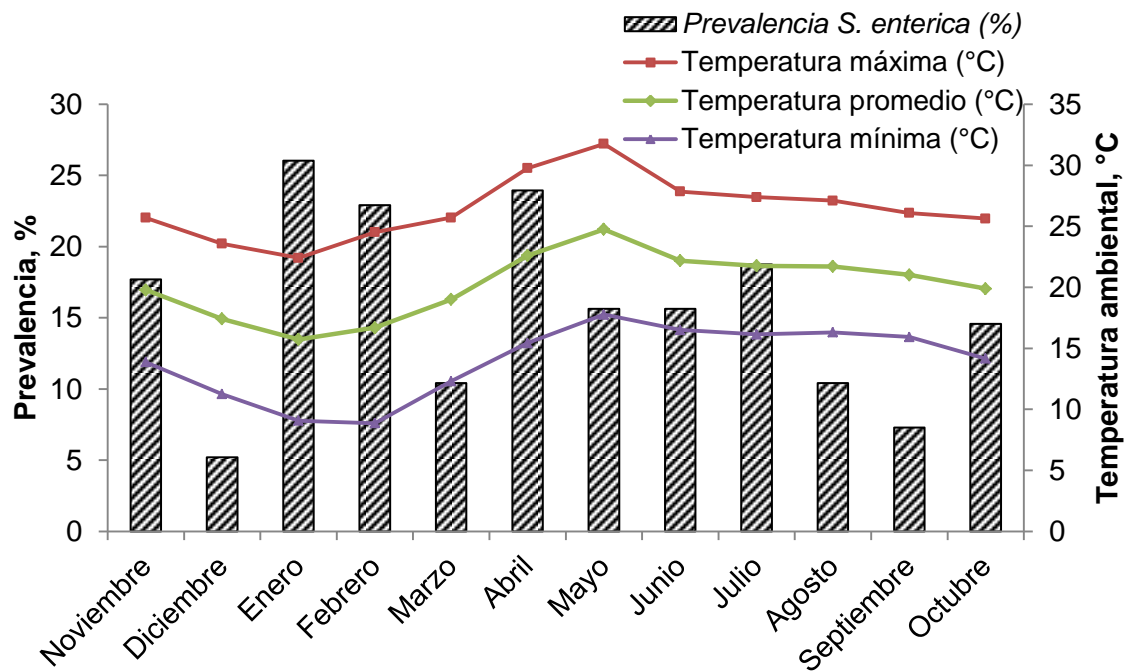


Figura 3. Prevalencia mensual de *S. enterica* y su asociación con la temperatura ambiental

Líneas de colores indican las temperaturas mensuales máxima (rojo), promedio (verde) y mínima (azul). Barras (ralladas) muestran la prevalencia mensual de *S. enterica* en carne de pollo. Para cada mes el tamaño de muestra fue de 96; excepto Marzo ($n = 48$ muestras).

Variables	Índice de correlación	Probabilidad
Temperatura máxima vs. Prevalencia	0.0372	0.9087
Temperatura promedio vs. Prevalencia	-0.1411	0.6619
Temperatura mínima vs. Prevalencia	-0.2840	0.3711

Cuadro 12. Correlación de Pearson entre temperatura ambiental y la prevalencia mensual de *S. enterica* en carne de pollo.

No se observó correlación significativa por el método de correlación de Pearson ($P > 0.05$)

Estos resultados indican, que bajo las condiciones del presente trabajo, la temperatura ambiental no afecta la presencia de *S. enterica* en puntos de venta. Esto contrasta lo reportado por Kovats y colaboradores; quienes identificaron una relación lineal entre la temperatura ambiental y los casos de salmonelosis en humanos (Kovats *et al.*, 2004). Es importante llevar a cabo estudios adicionales en el estado y otras regiones del país para corroborar el efecto de la temperatura ambiental sobre la prevalencia de *S. enterica*.

6.1.2 Prevalencia estacional de *S. enterica* en carne de pollo

Algunos estudios han demostrado que la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo se ve directamente influenciada por la estación del año (Zdragas *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2016). Para evaluar este efecto, los datos de prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo expedida en la Cd de Querétaro fueron analizados en las cuatro estaciones del año. El mayor número de muestras positivas a *S. enterica* se observó en Invierno [18.05%, (52/288)] seguido por Primavera [17.91%, (43/240)], Verano [14.93%, (43/288)] y Otoño [13.19%, (38/288)]. Sin embargo, no se observó un efecto estacional ($P > 0.05$) en la prevalencia de este patógeno (Figura 4).

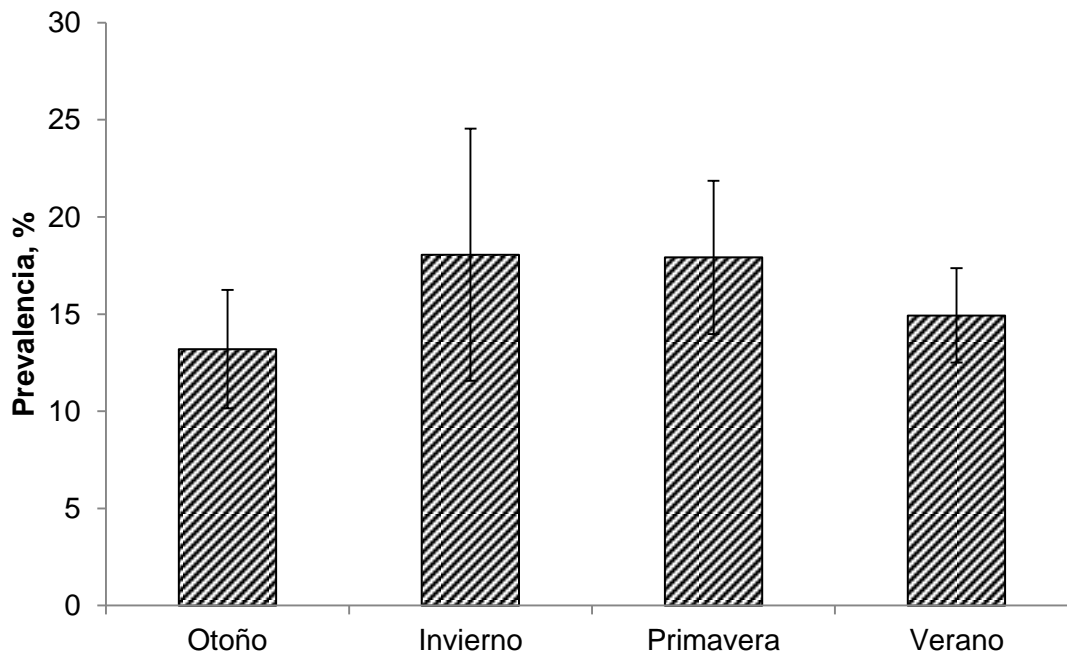


Figura 4. Prevalencia estacional de *S. enterica* en carne de pollo

Los bigotes representan el error típico (SEM). Las prevalencias estacionales fueron transformadas a grados angulares y analizadas por el método de comparación de pares de Wilcoxon ($g= 3$; $P > 0.05$). Para cada estación del año el tamaño de muestra fue de 288; excepto Primavera ($n = 240$ muestras).

Este fenómeno también se ha reportado en Chile (Ulloa *et al.*, 2009) y Canadá (Ravel *et al.*, 2010). En contraste, el efecto de la estacionalidad sobre la prevalencia de *S. enterica* se ha reportado en otros lugares del mundo. Por

ejemplo, estudios en Grecia y Corea, han reportado un aumento de ~3 veces en la prevalencia de *S. enterica* en Verano, comparado con el Invierno (Zdragas *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2016). En Turquía, se ha observado un aumento del 1.3 al 3.9 en Otoño comparado con el resto de las estaciones del año (Iseri & Erol, 2010); mientras que en Nepal el aumento en Primavera fue del 1.3 a 4.1 comparado con el resto del año (Maharjan *et al.*, 2006). En conjunto, estos resultados resaltan diferencias mensuales en la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo. Es necesario realizar estudios adicionales para corroborar los resultados observados en México.

6.1.2.1 Correlación entre la temperatura ambiental y la prevalencia estacional de *S. enterica* en carne de pollo

En varias regiones del mundo se ha observado que a lo largo de las estaciones del año, la temperatura presenta una relación lineal con el aumento de casos de salmonelosis (Kovats *et al.*, 2004; Akil *et al.*, 2014). Para analizar la asociación entre la temperatura ambiental y prevalencia estacional de *S. enterica* en puntos de venta, se realizó un análisis de correlación de Pearson. El análisis reveló que no existe ($P > 0.05$) una asociación entre la temperatura ambiental (máxima, promedio y mínima) y prevalencia estacional de *S. enterica* en carne de pollo (Figura 5 y Cuadro 12).

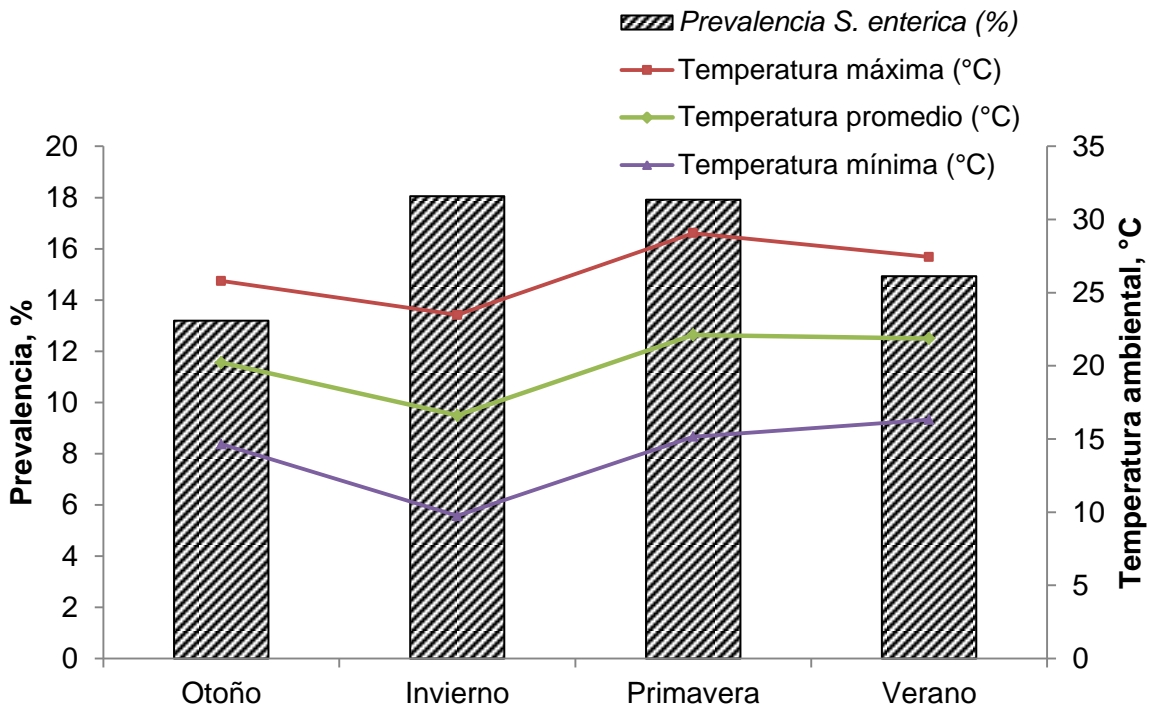


Figura 5. Prevalencia estacional de *S. enterica* en carne de pollo y su temperatura ambiental

Líneas de colores indican las temperaturas estacional máxima (rojo), promedio (verde) y mínima (azul). Barras (ralladas) muestran la prevalencia estacional de *S. enterica* en carne de pollo. Otoño (n =288), Invierno (n = 288), Verano (n = 288) y Primavera (n = 240).

Variables	Índice de correlación	Probabilidad
Temperatura máxima vs. Prevalencia	-0.0191	0.9809
Temperatura promedio vs. Prevalencia	-0.3075	0.6925
Temperatura mínima vs. Prevalencia	-0.5232	0.4768

Cuadro 13. Correlación de Pearson entre la temperatura y la prevalencia estacional de *S. enterica*

No se observó correlación significativa por el método de correlación de Pearson ($P > 0.05$)

No hay otros estudios reportados donde se evalué el efecto de la temperatura ambiental sobre prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo expedida en puntos de venta. Sin embargo, en varios países de la UE, se ha reportado un aumento de casos de salmonelosis en humanos en el Verano, mientras que en el Invierno, se observa una reducción (Kovats *et al.*, 2004; Milazzo *et al.*, 2016; Yun *et al.*, 2016). El aumento en el número de casos de *S. enterica* se ha asociado a un incremento de 6°C en la temperatura ambiental (Kovats *et al.*, 2004); variaciones de temperatura que no se observaron en el presente estudios. Estos resultados sugieren que la temperatura ambiental en la Cd. de Querétaro no es un factor que influya la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo expedida en puntos de venta.

6.1.3 Prevalencia de *S. enterica* por punto de venta

Varios autores han reportado diferencias significativas en la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo expedida en mercados públicos y supermercados (Wilson *et al.*, 2007; Madden *et al.*, 2011; Mazengia *et al.*, 2014). Esta tendencia también fue evaluada en el presente trabajo. El análisis de 23 muestreos quincenales a lo largo de un año, reveló que la prevalencia de *S. enterica* es más alta en supermercado [20.65% (152/736)] comparado con mercado público [6.52% (24/368)] ($P < 0.05$, **Figura 6**).

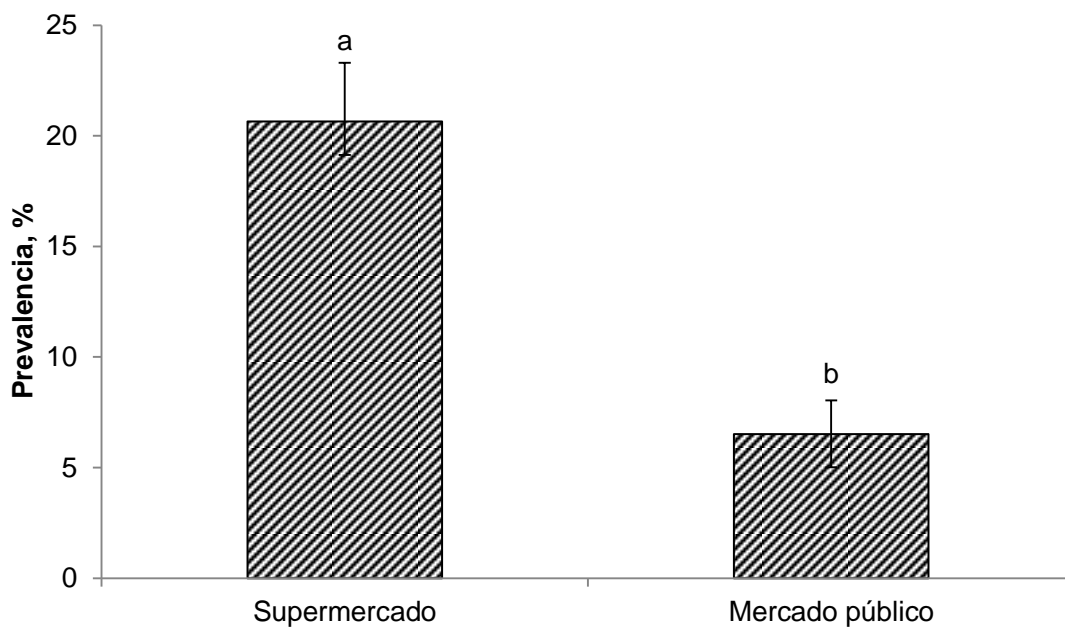


Figura 6. Prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo desde punto de venta

Los bigotes representan el error típico (SEM). Las prevalencias de punto de venta fueron transformadas a grados angulares y analizadas por el método de comparación de pares de Wilcoxon; Niveles conectados por diferentes letras son estadísticamente diferentes ($g=1$; $P < 0.05$). Supermercado ($n = 736$) y mercado público ($n = 368$)

Aunque estas diferencias no se observaron en otros estudios realizados en México (Zaidi *et al.*, 2008; Miranda *et al.*, 2009), otros estudios temporales de corte en diferentes partes del mundo coinciden con este hallazgo. Por ejemplo, un estudio a lo largo de 7 meses realizado por Harrison y colaboradores, reveló mayor presencia de *S. enterica* en carne de pollo expedida en supermercados [17%,

(28/175)] comparado con mercados públicos [13%, (16/125)] en el Reino Unido (Harrison *et al.*, 2001). En España, Capita y colaboradores reportaron mayor número de muestras positivas a *S. enterica* en carne de pollo obtenida en 24 supermercados [75%, (18/24)] comparado con carne obtenida en 16 mercados públicos [25%, (4/16)] (Capita *et al.*, 2003).

Se ha especulado que el menor número de muestras positivas en mercados públicos puede atribuirse al corto tiempo para la venta (~ 8 hr) en estos expendios, y a que el pollo es abastecido diariamente (Capita *et al.*, 2003). En contraste, en el supermercado la carne de pollo tiene un mayor tiempo para la venta (~ 7 días); lo cual podría favorecer la proliferación de *S. enterica* (Jiménez *et al.*, 2009; Morey & Singh, 2012; Rodríguez *et al.*, 2015). Otro posible escenario es la contaminación de la carne con bacteriófagos en el mercado público. En estos lugares, la condiciones sanitarias podrían favorecer la contaminación y proliferación de estos virus en la carne de pollo (Goode *et al.*, 2003; Woolston *et al.*, 2013). Por ejemplo, Goode y colaboradores demostraron que en carne de pollo contaminada con $< 2 \text{ Log}_{10}$ de *S. enterica* e inoculada con 10^5 PFU/cm^2 , el re-aislamiento de *S. enterica* no era posible (Goode *et al.*, 2003). Se requieren estudios adicionales para elucidar las causas que provocan las diferencias en prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo expedida en supermercados y mercados públicos.

6.1.3.1 Prevalencia de *S. enterica* por producto empaquetado

En el presente estudio también se investigó la prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo expedida en empaques de origen o a granel. El análisis reveló una mayor prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo empaquetado de origen [19.56%, (72/368)] y de granel [21.73%, (80/368)] expedidos en supermercado, comparado con el pollo expedido a granel en mercado público [6.52%, (24/368)] ($P < 0.05$, **Figura 9**).

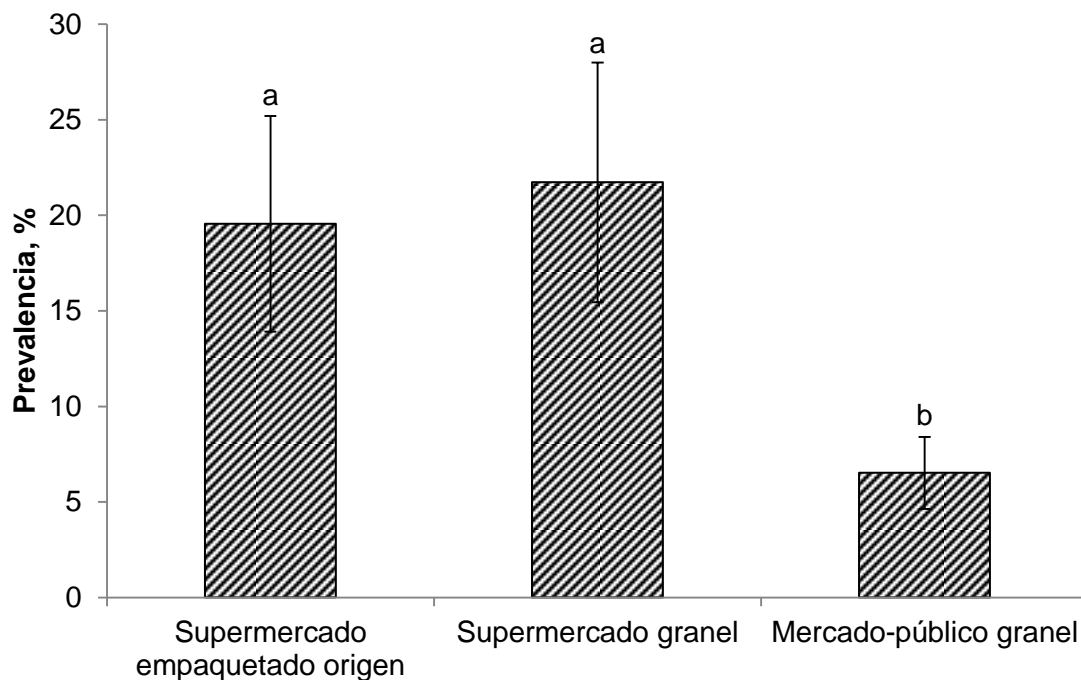


Figura 7. Prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo por origen de producto

Los bigotes representan el error típico (SEM). Las prevalencias por origen fueron transformadas a grados angulares y analizadas por el método de comparación de pares de Wilcoxon; Niveles conectados por diferentes letras son estadísticamente diferentes ($gI=2$; $P < 0.05$). En cada tipo de producto ($n = 368$)

Estos resultados corroboran que las condiciones de venta en los supermercados podrían estar asociadas a las altas prevalencias del patógeno. Resultados comparables fueron reportados por Alali y colaboradores, quienes identificaron mayor prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo empaquetada de origen [35%, (70/200)] y a granel [25.6%, (10/39)] expedidos en supermercado comparado con

pollo expendido a granel [10%, (3/30)] en mercado público. En conjunto, estos resultados sirven como marco de referencia para evidenciar problemas en la calidad microbiológica de la carne de pollo expedita en supermercados y mercados públicos.

6.1.4 Diversidad genética de *S. enterica* en carne de pollo en punto de venta

Los aislamientos de *S. enterica* obtenidos a partir de las muestras de carne de pollo fueron serotipificados molecularmente basados en la secuenciación y análisis bioinformático del gen *atpD* (Christensen & Olsen, 1998; Tankouo-Sandjong *et al.*, 2007; Al-Adhami *et al.*, 2008). Se caracterizó un aislamiento de cada una de las 176 muestras positivas a *S. enterica* siguiendo las recomendaciones previamente establecidas (Soomro *et al.*, 2010; Barua *et al.*, 2013; Im *et al.*, 2015). En general, se identificaron 13 serovares en los 12 meses analizados; de los cuales, los más prevalentes fueron *S. Enteritidis* [65.9 %, (116/176)], *S. Typhimurium* [7.38%, (13/176)], *S. Heidelberg* [6.81. %, (12/176)] y *Anatum* [6.26. %, (11/176)] (**Cuadro 13**).

Serovar	No. de muestras positivas	%
Enteritidis	116/176	65.90
Typhimurium	13/176	7.38
Heidelberg	12/176	6.81
Anatum	11/176	6.26
Choleraesuis	8/176	4.54
Newport	5/176	2.84
Bredeney	3/176	1.70
Tennessee	2/176	1.13
Agona	2/176	1.13
Montevideo	1/176	0.56
Abaetetuba	1/176	0.56
Infantis	1/176	0.56
Thompson	1/176	0.56

Cuadro 14. Serovariedades de *S. enterica* en base al análisis bioinformático

Número de aislamiento = 176

Estos serotipos también se han reportado en otros estudios desarrollados en México. En Yucatán, Zaidi y colaboradores reportaron que los serovares más prevalentes (> 5%) en carne de pollo fueron *Enteritidis* [16.8%, (24/143)] y *Agona*

[9.8%, (14/143)] (Zaidi *et al.*, 2006). Interesantemente, Enteritis es uno de los serotipos más prevalentes en la carne de pollo en otras partes del mundo. Por ejemplo, en el 2015, se reportó que los serotipos más frecuentes en los EE. UU. fueron Kentucky [38.3%, (23/60)], Enteritidis [23.3%, (14/60)] y Heidelberg [8.3%, (5/60)], Sainpaul [5%, (3/60)] (FDA, 2016). Mientras que en la UE, en el 2014, Infantis [35.8%, (582/1626)], Enteritidis [33.9%, (551/1626)] e Indiana [4.55%, (73/1626)] fueron recuperados con mayor frecuencia a partir de muestras de carne de pollo (EFSA, 2015). Si bien, no se conocen los mecanismos moleculares que favorecen la prevalencia de Enteritis en carne de pollo, algunos trabajos han evidenciado la presencia de alelos (genes *rpoH*, *hilA* y cold shock proteins, etc.) que facilitan la adaptación de Enteritidis al sistema intestinal de las aves y su sobrevivencia en productos cárnicos de pollo (Foley *et al.*, 2013; Andino & Hanning, 2015; Dhanani *et al.*, 2015).

6.1.4.1 Ocurrencia mensual de *S. enterica*

Para conocer la recurrencia de los diferentes serotipos a lo largo del año, se analizó el número de meses en que cada serotipo fue recuperado. El serotipo más recurrente ($P < 0.05$) fue Enteritidis (12/12 meses), seguido de Typhimurium y Anatum (6/12 meses) (**Figura 8**).

Serovares	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Meses observados	Prob
Enteritidis	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	12	a
Typhimurium	■	□	■	■	□	□	□	■	■	□	□	■	6	b
Anatum	■	□	□	■	□	■	□	□	■	■	□	■	6	b
Heidelberg	■	□	□	□	□	□	□	■	■	□	□	■	4	c
Choleraesuis	□	□	□	□	□	■	■	□	□	■	□	■	4	c
Newport	■	□	■	□	□	□	□	□	□	■	□	□	3	c
Bredeney	□	□	□	□	■	□	■	□	□	□	□	□	2	c
Tennessee	■	□	□	□	□	□	□	■	□	□	□	□	2	c
Agona	□	□	■	□	□	□	□	□	□	□	■	□	2	c
Montevideo	□	□	□	□	□	□	□	□	■	□	□	□	1	c
Abaetetuba	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	■	1	c
Infantis	□	□	□	□	□	□	□	■	□	□	□	□	1	c
Thompson	□	□	□	□	□	□	□	□	■	□	□	□	1	c
No. de serotipos por mes	6	1	4	3	2	3	3	5	6	4	2	6		

Figura 8. Ocurrencia mensual de serotipos de *S. enterica*

Celda de color púrpura indica presencia del serotipo a lo largo de los meses. Los datos fueron analizados con el método de comparación de pares de Wilcoxon. Filas con distinta letra son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

La recurrencia de Enteritidis ha sido reportada en otros estudios. Por ejemplo, en Lituania un estudio realizado durante 5 años reveló la presencia de Enteritidis y Typhimurium en carne de pollo expedida en puntos de venta durante todo el periodo evaluado (Pieskus *et al.*, 2006). En EE. UU., también se ha documentado la recurrencia de Enteritidis, Typhimurium, Kentucky y Heidelberg en los reportes de los últimos años (FDA, 2010, 2011, 2016). Un patrón comparable se ha observado en la Unión Europea donde, Enteritidis, Infantis, Virchow y Kentucky se han recurado en los últimos 3 reportes anuales (EFSA, 2010, 2014, 2015). Estos

datos revelan que Enteritidis es uno de los serotipos más comúnmente recuperados de la carne de pollo a nivel mundial.

6.1.4.2 Ocurrencia estacional de *S. enterica*

Aunque el número de estudios es escaso, algunos reportes han sugerido diferencias estacionales en la diversidad de serotipos prevalentes en carne de pollo (Domínguez *et al.*, 2002; Zdragas *et al.*, 2012). En el presente estudio se analizó la distribución de serotipos a lo largo de las diferentes estaciones del año y el número de serotipos recuperados en cada estación. Enteritidis, Anatum, Typhimurium, Choleraesuis y Newport se recuperaron en 4 o 3 estaciones del año, mientras que Heidelberg, Tennessee, Bredeney, Agona, Montevideo, Abaetetuba, Infantis y Thompson se recuperan en 2 a 1 estaciones del año. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en estos valores de distribución (Figura 9).

Serovares	Otoño	Invierno	Primavera	Verano	Estaciones observadas
Enteritidis	■	■	■	■	4
Anatum	■	■	■	■	4
Typhimurium	■	■	□	■	3
Choleraesuis	■	□	■	■	3
Newport	■	■	□	■	3
Heidelberg	■	□	□	■	2
Tennessee	■	□	□	■	2
Bredeney	□	□	■	□	1
Agona	■	■	□	□	1
Montevideo	□	□	□	■	1
Abaetetuba	■	□	□	□	1
Infantis	□	□	□	■	1
Thompson	□	□	□	■	1
No. de serotipos por estación	9	5	4	10	

Figura 9. Ocurrencia estacional de serotipos de *S. enterica*

Celda de color púrpura indica presencia del serotipo a lo largo de las épocas del año. Los datos fueron analizados con el método de comparación de pares de Wilcoxon ($P > 0.05$).

La ocurrencia de Enteritidis y Anatum en las cuatro estaciones del año también ha sido reportada en España y Lituania (Domínguez *et al.*, 2002; Pieskus *et al.*, 2006). En Turquía también se ha reportado la ocurrencia de Agona en Otoño e Invierno (Erol *et al.*, 2013). La presencia de Thompson, Infantis y Montevideo en Verano también ha sido reportada en Grecia y Turquía (Zdragas *et al.*, 2012; Erol *et al.*, 2013). En conjunto, estos resultados resaltan importantes diferencias de serotipos de *S. enterica* a lo largo del año. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para elucidar las causas de este fenómeno.

También el análisis de diversidad de serotipos reveló datos importantes. Verano y Otoño fueron las estaciones con mayor ocurrencia (10 y 9 serotipos, respectivamente) comparado con Primavera e Invierno (4 y 5 serotipos, respectivamente). Si bien, el número de reportes es limitado, algunos estudios también han reportado diferencias estacionales en la diversidad de serotipos en carne de pollo y cerdo. En Grecia, también se ha observado una mayor diversidad de serotipos en Verano (12 serotipos) comparado con Invierno (4 serotipos) (Zdragas *et al.*, 2012). En Tunisia, el mayor número de serotipos se observó en Verano (4 serotipos), seguido de Otoño (3 serotipos), Primavera (2 serotipos) e Invierno (1 serotipo) (Oueslati *et al.*, 2016). Este patrón también se ha observado en muestreos ambientales. Por ejemplo, en EE.UU., un análisis de aguas superficiales, reveló un incremento en la diversidad de serotipos en Verano (17 serotipos) comparado con Otoño (12 serotipos), Invierno (12 serotipos) y Primavera (9 serotipos) (Haley *et al.*, 2009). En conjunto, estos estudios indican que las estaciones del año influyen en la diversidad de serotipos de *S. enterica* que circulan en unidades de producción animal o en el ambiente.

6.1.4.3 Diversidad de *S. enterica* por punto de venta

Durante los 12 de evaluación, también se comparó el número de serotipos prevalentes en carne de pollo expedida en supermercados y mercado público. El análisis reveló un mayor número ($P < 0.05$) de serotipos en supermercado (promedio 3.16) comparado con mercado público (promedio 1.33) (**Cuadro 14**).

Punto de venta	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Media	Prob
	# Serotipos													
Supermercado	5	1	2	3	2	3	2	5	4	3	2	6	3.2	a
Mercado público	3	0	3	1	1	1	1	0	2	2	0	2	1.3	b

Cuadro 15. Número de serotipos de *S. enterica* por puntos de venta durante un año evaluado.

El promedio de serotipos anual fue analizado con el método de Wilcoxon ($g=1$). Diferente letra representa una significancia de $P < 0.05$.

Asimismo, se observó que el serotipo más prevalente ($P < 0.05$) fue Enteritidis (69.2%) en supermercado comparado con mercado público (25.0%) (**Cuadro 15**).

Serovares	Supermercado	Mercado público
	Promedio de prevalencia anual (%)	
Enteritidis	69.2 ^a	25 ^b
Typhimurium	4.7 ^a	16.7 ^a
Heidelberg	5.6 ^a	8.3 ^a
Anatum	4.7 ^a	7.1 ^a
Choleraesuis	3.5 ^a	3.3 ^a
Bredeney	2.1 ^a	8.3 ^a
Agona	1.2 ^a	2.1 ^a
Newport	6.0 ^a	0 ^a
Tennessee	1.2 ^a	0 ^a
Montevideo	0.5 ^a	0 ^a
Abaetetuba	0.7 ^a	0 ^a
Infantis	0.6 ^a	0 ^a
Thompson	0 ^a	4.2 ^a

Cuadro 16. Promedio de prevalencia anual de serovares de *S. enterica* por puntos de venta

Las prevalencias de cada serotipo fueron transformadas a grados angulares y analizadas por el método de Wilcoxon; Filas con diferentes letras son estadísticamente diferentes ($g=1$; $P < 0.05$).

En la literatura, no existen otros estudios temporales que describan la diversidad de serotipos recuperados de carne de pollo expedida en puntos de venta. Sin embargo, los análisis del presente trabajo han revelado que Enteritidis es uno de los serotipos más prevalentes y recurrentes en la carne de pollo expedida en puntos de venta.

6.1.4.3.1 Diversidad de *S. enterica* en producto empaquetado

Durante los 12 meses evaluados también se analizó el número serotipos observados en pollo empaquetado de origen y pollo expedido a granel. En el pollo expedido en supermercado, independientemente si es expedido con empaquetado de origen o granel (promedio mensual 2.17), se recuperó un número mayor ($P < 0.05$) de serotipos de *S. enterica*, comparado con el mercado público (promedio mensual 1.33) (**Cuadro 16**).

Punto de venta	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Media	Prob
	# Serotipos													
Supermercado empaquetado de origen	3	1	1	3	2	2	2	2	2	3	2	3	2.17	a
Supermercado granel	3	1	2	2	2	3	1	4	3	0	1	4	2.17	a
Mercado público granel	3	0	3	1	1	1	1	0	2	2	0	2	1.33	b

Cuadro 17. Número de serotipos de *S. enterica* por puntos de venta durante un año evaluado

El promedio de serotipos anual fue analizado con el método de Wilcoxon ($g=2$). Diferente letra representa una significancia de $P < 0.05$.

También se observó que Enteritidis es el serotipo más prevalente ($P < 0.05$) en el pollo expedido en supermercado, independientemente si es expedido con empaquetado de origen o granel comparado con el pollo expedido a granel en el mercado público (**Cuadro 17**).

Serovares	Supermercado empaquetado de origen	Supermercado granel	Mercado público granel
Promedio de prevalencia anual (%)			
Enteritidis	64.2 ^a	70.4 ^a	25.0 ^b
Typhimurium	8.9 ^a	3.2 ^a	16.7 ^a
Heidelberg	7.8 ^a	4.2 ^a	8.3 ^a
Anatum	2.5 ^a	4.9 ^a	7.1 ^a
Choleraesuis	3.0 ^a	2.6 ^a	3.3 ^a
Newport	6.7 ^a	0.8 ^a	0 ^a
Tennessee	1.7 ^a	0.7 ^a	0 ^a
Agona	1.7 ^a	0 ^a	2.1 ^a
Bredeney	0 ^a	4.2 ^a	8.3 ^a
Montevideo	0.8 ^a	0 ^a	0 ^a
Abaetetuba	2.8 ^a	0 ^a	0 ^a
Infantis	0 ^a	0.7 ^a	0 ^a

Cuadro 18. Promedio de prevalencia anual de serovares de *S. enterica* por origen de producto

Las prevalencias de cada serotipo fueron transformadas a grados angulares y analizadas por el método de Wilcoxon; Filas con diferentes letras son estadísticamente diferentes ($g=2$; $P < 0.05$).

En la literatura no existen otros estudios temporales de corte de la diversidad de *S. enterica* recuperada de carne de pollo expedida en puntos de venta. Los resultados del presente estudio son un marco de referencia para establecer medidas de control de *S. enterica* en carne de pollo.

7. CONCLUSIONES

En el presente estudio se estimó una prevalencia del 15.94% de *S. enterica* en carne de pollo en la Cd de Querétaro. Este nivel de contaminación está dentro de los niveles permitidos en EE.UU. y otros países de la Unión Europea. Esta información resalta la necesidad de establecer medidas de control de *S. enterica* en carne de pollo.

El análisis temporal reveló una presencia constante de *S. enterica* en carne de pollo independientemente de la estación del año. También se evidenció que la temperatura ambiental no influye en la prevalencia del patógeno en la carne de pollo expedida en la Cd. de Querétaro.

El presente trabajo también reveló que la prevalencia de *S. enterica* es mayor en carne de pollo expedida en supermercado comparado con mercado público. Se ha teorizado que el microbismo del mercado público sea el responsable de este fenómeno. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para elucidar las causas de estas diferencias.

Alternativamente, la mayor prevalencia de *S. enterica* en carne de pollo de supermercados podría ser consecuencia de los largos periodos de tiempo para la venta en estos establecimientos. Esta idea la respaldan los resultados del análisis de producto empaquetado, donde se demuestra que el pollo expedido en supermercados presenta una mayor prevalencia de *S. enterica* independientemente de ser expedido en empaquetado de origen o a granel.

Hasta donde sabemos, este es uno de los primeros estudios temporales de corte que se realiza para carne de pollo expedida en puntos de venta. Esto permitió conocer que Enteritidis, Newport, Heidelberg, Anatum, Tennessee, Typhimurium, Thompson, Abaetetuba, Montevideo, Agona, Infantis, Bredeney y Choleraesuis son los serotipos que circulan en la carne de pollo expedida en puntos de venta. Además, este trabajo permitió evidenciar la prevalencia, ocurrencia y distribución

de los diferentes serotipos de *S. enterica* a lo largo del año. Interesantemente, *S. Enteritidis* fue el serovar más prevalente y recurrente en supermercado y mercado público.

En conclusión, este trabajo puede ser utilizado como un marco de referencia para estimar la magnitud del problema de *S. enterica* en carne de pollo en México, y establecer algunas medidas de control de este patógeno. Importantemente, este trabajo también ofrece una colección de aislamientos que pueden ser utilizados para estudios genéticos y fenotípicos de virulencia y resistencia a antibióticos.

8. ANEXOS

País	Pieza	n	% Prevalencia	Referencia
Vietnam	Canal	457	48.7	Hanh et al., 2006
Vietnam	Pierna, cuello, muslo, ala y ala	1,000	45.9	Huong et al., 2006
Irán	Canal	190	45	Dallal et al., 2014
China	Canal	240	43.3	Wang et al., 2013
China	Canal	515	43.3	Yang et al., 2010
Bélgica	Ala y pierna	483	41.8	Uyttendaele et al., 1999
China	Canal	1,595	41.6	Zhu et al., 2014
México	Canal	295	39.7	Zaidi et al., 2006
España	Muslo	198	35.8	Domínguez et al., 2002
México	Pierna, pechuga, ala y cuello	116	35.3	Miranda et al., 2009
Guatemala	Canal	300	34.3	Jarquín et al., 2015
Turquía	Canal	200	34.0	Yildirim et al., 2011
China	Canal	240	33.8	Huang et al., 2015
Rusia	Canal	698	31.5	Alali et al., 2012
Canadá	Pechuga	187	31.0	Cook et al., 2012
Irán	Canal	200	29.0	Sodagari et al., 2015)
China	Canal	106	28.0	Li et al., 2013
Colombia	Canal	510	26.7	Donado-Godoy et al., 2015
Brasil	Canal	154	23.0	Santos et al., 2006
Irlanda	Cuello	198	23.0	Whyte et al., 2002
Egipto	Canal	226	22.7	Álvarez et al., 2012
Corea	Canal	210	22.4	Kim et al., 2012
Irán	Hígado	120	21.6	Sodagari et al., 2015
Brasil	Canal	762	20.7	Franchin et al., 2006
EE.UU.	Cuello	714	19.8	Cox et al., 2010
Bélgica	Canal	549	18.2	Uyttendaele et al., 1999
Colombia	Canal	270	17.4	Rodríguez et al., 2015
EE.UU.	Canal	714	17.1	Cox et al., 2010
México	Pierna y muslo	1,008	16.6	Este estudio
Austria	Canal	281	16.4	Mayrhofer et al., 2004
Etiopía	Musculo	104	15.4	Molla et al., 2004
Costa Rica	Vísceras	100	15.0	Reuben et al., 2003
Reino Unido	Pierna, pechuga, ala y cuello	110	15.0	Harrison et al., 2001
Argentina	Muslo, pierna, pechuga	115	14.8	Favier & Lucero, 2013
Irán	Corazón	120	14.1	Sodagari et al., 2015
Chile	Vísceras	370	13.0	Alexandre et al., 2000
Rumanía	Cuello	289	12.8	Tîrziu et al., 2015
Japón	Canal	323	12.7	Hara-Kudo et al., 2013
Brasil	Canal	260	9.6	Duarte et al., 2009

Cuadro A1. Prevalencia de *S.enterica* en carne de pollo alrededor del mundo

País	Pieza	n	% Prevalencia	Referencia
Bélgica	Cuello y pechuga	1,091	9.5	Ghafir <i>et al.</i> , 2006
Chile	Canal	1,425	8.4	Alexandre <i>et al.</i> , 2000
Irán	Vísceras	120	8.3	Sodagari <i>et al.</i> , 2015
Etiopia	Piel	104	7.7	Molla <i>et al.</i> , 2004
Reino Unido	Canal	736	5.7	Meldrum <i>et al.</i> , 2005
Tailandia	Canal	209	5.3	Akbar & Anal, 2013
Irlanda	Cuello	510	5.1	Madden <i>et al.</i> , 2011
Lituania	Pechuga	800	4.3	Pieskus <i>et al.</i> , 2006
EE.UU.	Canal	212	4.2	Zhao <i>et al.</i> , 2001
Rumania	Canal	144	4.2	Dan <i>et al.</i> , 2015
Vietnam	Vísceras	907	3.1	Hanh <i>et al.</i> , 2006
Brasil	Canal	2,679	2.7	Medeiros <i>et al.</i> , 2011
Lituania	Pierna	887	2.4	Pieskus <i>et al.</i> , 2006
Chile	Canal	280	1.8	Ulloa <i>et al.</i> , 2009
Colombia	Carne de pollo	127	1.6	Rodriguez <i>et al.</i> , 2015
Egipto	Pierna	160	1.5	Ahmed & Shimamoto, 2014
Irlanda	Piernas y pechugas	205	1.5	Soultos <i>et al.</i> , 2003
México	Hígado	520	1.3	Talavera Rojas <i>et al.</i> , 2011
Nueva Zelanda	Pierna, muslo, cuello, ala y pechuga	1,108	1.3	Wong <i>et al.</i> , 2007
Jordania	Canal	478	0.9	Osaili <i>et al.</i> , 2014
Lituania	Ala	3,042	0.8	Pieskus <i>et al.</i> , 2006
Chile	Vísceras	280	0.4	Ulloa <i>et al.</i> , 2009
Egipto	Pechuga	160	0.3	Ahmed & Shimamoto, 2014
Argentina	Canal	100	0.0	Favier & Lucero, 2013

Continuación

Cuadro A1. Prevalencia de *S.enterica* en carne de pollo alrededor del mundo

9. REFERENCIAS

- Ahmed, A. M., & Shimamoto, T. (2014). Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Shigella* spp. from meat and dairy products in Egypt. *Int J Food Microbiol*, 168–169, 57–62.
- Akbar, A., & Anal, A. K. (2013). Prevalence and antibiogram study of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in poultry meat. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(2), 163–168.
- Akil, L., Ahmad, H. A., & Reddy, R. S. (2014). Effects of Climate Change on *Salmonella* Infections. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(12), 974–980.
- Al-Adhami, B. H., Huby-Chilton, F., Blais, B. W., Martinez-Perez, A., Chilton, N. B., & Gajadhar, A. A. (2008). Rapid Discrimination of *Salmonella* Isolates by Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis. *Journal of Food Protection*, 71(10), 1960–1966.
- Alali, W. Q., Gaydashov, R., Petrova, E., Panin, A., Tugarinov, O., Kulikovskii, A., Doyle, M. P. (2012). Prevalence of *Salmonella* on Retail Chicken Meat in Russian Federation. *Journal of Food Protection*, 75(8), 1469–1473.
- Alexandre S, M., Pozo M, C., González G, V., H, M., Cristina, M., Prat M, S., Heitmann G, I. (2000). Detección de *Salmonella* Enteritidis en muestras de productos avícolas de consumo humano en la Región Metropolitana. *Revista Médica de Chile*, 128(10), 1075–1083.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410.
- Álvarez-Fernández, E., Alonso-Calleja, C., García-Fernández, C., & Capita, R. (2012). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from poultry in Spain: Comparison between 1993 and 2006. *International Journal of Food Microbiology*, 153(3), 281–287.

- Andino, A., & Hanning, I. (2015). *Salmonella enterica*: survival, colonization, and virulence differences among serovars. *TheScientificWorldJournal*, 2015, 520179.
- Antunes, P., Réu, C., Sousa, J. C., Peixe, L., & Pestana, N. (2003). Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *International Journal of Food Microbiology*, 82(2), 97–103.
- Barua, H., Biswas, P. K., Olsen, K. E. P., Shil, S. K., & Christensen, J. P. (2013). Molecular Characterization of Motile Serovars of *Salmonella enterica* from Breeder and Commercial Broiler Poultry Farms in Bangladesh. *PLoS ONE*, 8(3).
- Baumgartner, A., & Felleisen, R. (2011). Market Surveillance for Contamination with Thermotolerant *Campylobacter* on Various Categories of Chicken Meat in Switzerland. *Journal of Food Protection*, 74(12), 2048–2054.
- Bell, R. L., Jarvis, K. G., Ottesen, A. R., McFarland, M. A., & Brown, E. W. (2016). Recent and emerging innovations in *Salmonella* detection: a food and environmental perspective. *Microbial Biotechnology*, 9(3), 279–292.
- Berrang, M. E., Windham, W. R., & Meinersmann, R. J. (2011). *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* on broiler carcasses subjected to a high pH scald and low pH postpick chlorine dip. *Poultry Science*, 90(4), 896–900.
- Betancor, L., Pereira, M., Martinez, A., Giossa, G., Fookes, M., Flores, K., Chabalgoity, J. A. (2010). Prevalence of *Salmonella enterica* in Poultry and Eggs in Uruguay during an Epidemic Due to *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(7), 2413–2423.
- Bisi-Johnson, M. A., Obi, C. L., Vasaikar, S. D., Baba, K. A., & Hattori, T. (2011). Molecular basis of virulence in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Salmonella* species from a tertiary hospital in the Eastern Cape, South Africa. *Gut Pathogens*, 3, 9.

- Bohaychuk, V. M., Gensler, G. E., King, R. K., Manninen, K. I., Sorensen, O., Wu, J. T., McMullen, L. M. (2006). Occurrence of Pathogens in Raw and Ready-to-Eat Meat and Poultry Products Collected from the Retail Marketplace in Edmonton, Alberta, Canada. *Journal of Food Protection*, 69(9), 2176–2182.
- Bosilevac, J. M., Guerini, M. N., Kalchayanand, N., & Koohmaraie, M. (2009). Prevalence and Characterization of *Salmonella* in Commercial Ground Beef in the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(7), 1892–1900.
- Burfoot D., Archer J., Horváth E., & Hooper G. (2009). Fate of *Salmonella* spp. on broiler carcasses before and after cutting and/or deboning. Retrieved from <http://www.efsa.europa.eu/de/scdocs/doc/45e.pdf>
- Burgess, F., Little, C. L., Allen, G., Williamson, K., & Mitchell, R. T. (2005). Prevalence of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* on the External Packaging of Raw Meat. *Journal of Food Protection*, 68(3), 469–475.
- Canales. (2006). *Guía de mejores técnicas disponibles en España del sector matadero y de los transformados de pollo y gallina*. España: Centro de Publicaciones Secretario General Técnica Ministerio de Medio Ambiente ©. Retrieved from http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/industria-agroalimentaria/Gu%C3%ADa_MTD_en_Espa%C3%B1a_Transformado_pollo_y_gallina_tcm7-8219.pdf
- Capita, R., Álvarez-Astorga, M., Alonso-Calleja, C., Moreno, B., & del Camino García-Fernández, M. (2003). Occurrence of *Salmonella* in retail chicken carcasses and their products in Spain. *International Journal of Food Microbiology*, 81(2), 169–173.
- CDC. (2013a). Multistate Outbreak of *Salmonella* Chester Infections Associated with Frozen Meals — 18 States, 2010. Retrieved September 19, 2015, from <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6248a2.htm>

- CDC. (2013b). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks — United States, 1998–2008. Retrieved June 7, 2015, from www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss6202a1.htm
- CDC. (2014a). Multistate Outbreak of Multidrug-Resistant *Salmonella* Heidelberg Infections Linked to Foster Farms Brand Chicken. Retrieved from <http://www.cdc.gov/salmonella/heidelberg-10-13/index.html>
- CDC. (2014b). *Salmonella* | Outbreak of Salmonella Heidelberg Infections Linked to Tyson Brand Chicken. Retrieved June 7, 2015, from www.cdc.gov/salmonella/heidelberg-01-14/index.html
- CDC. (2015). Multistate Outbreak of Drug-Resistant *Salmonella* Enteritidis Infections Linked to Raw, Frozen, Stuffed Chicken Entrees Produced by Barber Foods. Retrieved from <http://www.cdc.gov/salmonella/frozen-chicken-entrees-07-15>.
- Champagne, M.-J., Ravel, A., & Daignault, D. (2005). A Comparison of Sample Weight and Culture Methods for the Detection of *Salmonella* in Pig Feces. *Journal of Food Protection*, 68(5), 1073–1076.
- Chap T. Le and James R. Boen, Wiley, & Chichester. (1995). Health and numbers - basic biostatistical methods.
- Charles Dan. (2014). How Foster Farms Is Solving The Case Of The Mystery *Salmonella*. Retrieved from <http://www.npr.org/sections/thesalt/2014/08/28/342166299/how-foster-farms-is-solving-the-case-of-the-mystery-salmonella>
- Christensen, H., & Olsen, J. E. (1998). Phylogenetic relationships of *Salmonella* based on DNA sequence comparison of *atpD* encoding the β subunit of ATP synthase. *FEMS Microbiology Letters*, 161(1), 89–96.
- Codex Alimentarius. (2005). Código de prácticas de higiene para la carne. Retrieved from http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_composition.html

- Cook, A., Odumeru, J., Lee, S., & Pollari, F. (2012). *Campylobacter*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, Verotoxigenic *Escherichia coli*, and *Escherichia coli* Prevalence, Enumeration, and Subtypes on Retail Chicken Breasts with and without Skin. *Journal of Food Protection*, 75(1), 34–40.
- Cox, J. m., & Pavic, A. (2010). Advances in enteropathogen control in poultry production. *Journal of Applied Microbiology*, 108(3), 745–755.
- Cox, N. A., Cason, J. A., & Richardson, L. J. (2011). Minimization of *Salmonella* Contamination on Raw Poultry. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2(1), 75–95.
- Cox, N. A., Richardson, L. J., Cason, J. A., Buhr, R. J., Vizzier-Thaxton, Y., Smith, D. P., Doyle, M. P. (2010). Comparison of neck skin excision and whole carcass rinse sampling methods for microbiological evaluation of broiler carcasses before and after immersion chilling. *Journal of Food Protection*, 73(5), 976–980.
- Cudjoe, K. S., Krona, R., & Olsen, E. (1994). IMS: a new selective enrichment technique for detection of *Salmonella* in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 23(2), 159–165.
- Dallal, M. M. S., Doyle, M. P., Rezadehbashi, M., Dabiri, H., Sanaei, M., Modarresi, S., ... Sharifi-Yazdi, M. K. (2010). Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* serotypes, *Campylobacter* and *Yersinia* spp. isolated from retail chicken and beef, Tehran, Iran. *Food Control*, 21(4), 388–392.
- Dan, S. D., Tabaran, A., Mihaiu, L., & Mihaiu, M. (2015). Antibiotic susceptibility and prevalence of foodborne pathogens in poultry meat in Romania. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 9(1), 035–041.

- Dekker, J. P., & Frank, K. M. (2015). *Salmonella, Shigella, and Yersinia*. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(2), 225–246.
- Dhanani, A. S., Block, G., Dewar, K., Forgetta, V., Topp, E., Beiko, R. G., & Diarra, M. S. (2015). Genomic Comparison of Non-Typhoidal *Salmonella enterica* Serovars Typhimurium, Enteritidis, Heidelberg, Hadar and Kentucky Isolates from Broiler Chickens. *PLoS ONE*, 10(6).
- Domínguez, C., Gómez, I., & Zumalacárregui, J. (2002). Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. *International Journal of Food Microbiology*, 72(1–2), 165–168.
- Donado-Godoy, P., Byrne, B. A., León, M., Castellanos, R., Vanegas, C., Coral, A., Smith, W. A. (2015). Prevalence, Resistance Patterns, and Risk Factors for Antimicrobial Resistance in Bacteria from Retail Chicken Meat in Colombia. *Journal of Food Protection*, 78(4), 751–759.
- Donado-Godoy, P., Clavijo, V., León, M., Arevalo, A., Castellanos, R., Bernal, J., Doyle, M. P. (2014). Counts, Serovars, and Antimicrobial Resistance Phenotypes of *Salmonella* on Raw Chicken Meat at Retail in Colombia. *Journal of Food Protection*, 77(2), 227–235.
- Duarte, D. A. M., Ribeiro, A. R., Vasconcelos, A. M. M., Santos, S. B., Silva, J. V. D., de Andrade, P. L. A., & de Arruda Falcão, L. S. P. da C. (2009). Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40(3), 569–573.
- EFSA. (2006). The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial resistance and Foodborne outbreaks in the European Union in 2005. *EFSA Journal*, 4(12).

- EFSA. (2010). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. *EFSA Journal*, 10(3).
- EFSA. (2011a). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses, in the EU, 2008. Retrieved from <http://www.efsa.europa.eu/en/search/doc/2017.pdf>
- EFSA. (2011b). *Salmonella*. Retrieved from www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/salmonella
- EFSA. (2012). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012: EU summary report on zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks 2012. *EFSA Journal*, 12(2), 3547.
- EFSA. (2014). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014: EU summary report on zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks 2014. *EFSA Journal*, 13(12), 4329.
- EFSA. (2015). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union 2013 (EFSA Journal). Retrieved from www.efsa.europa.eu/efsajournal
- Scallan, Robert M. Hoekstra, Frederick J. Angulo, Robert V. Tauxe, Marc-Alain Widdowson, Sharon L. Roy, Patricia M. Griffin. (2011). Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens, 17.
- Elhadi, N. (2014). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. in raw retail frozen imported freshwater fish to Eastern Province of Saudi Arabia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(3), 234–238.

- Erol, I., Goncuoglu, M., Ayaz, N. D., Ellerbroek, L., ppo, Bilir Ormanci, F. S., & Iseri Kangal, O. (2013). Serotype Distribution of *Salmonella* Isolates from Turkey Ground Meat and Meat Parts. *BioMed Research International*, 2013, e281591.
- Escartín F. E. (2000). Microbiología e inocuidad de los alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Eyigor, A., Temelli, S., & Carli, K. T. (2010). Evaluation of ISO 6579 and FDA-BAM Methods to Complement Real-Time Polymerase Chain Reaction for the Detection of *Salmonella* in Naturally Contaminated Poultry Meat and Red Meat. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(8), 921–927.
- FAO. (1997). Control Microbiológico Tradicional. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/003/t1768s/T1768S05.htm>
- FAO. (2013). Persepectivas alimentarias: Resumen de mercado. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/018/al999s/al999s.pdf>
- FAO. (2014). Perspectivas agrícolas, OCDE-FAO, 2005-2014 (Carne: Tendencias y perspectivas del mercado mundial). Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-y9492s/y9492s08.htm>
- FAO. (2015). Composición de la carne. Retrieved from <http://www.fao.org/ag/ags/gestion-poscosecha/carne-y-productos-carnicos/antecedentes-y-consumo-de-carne/composicion-de-la-carne/es/>
- Favier, I., & Lucero, E. (2013). Prevalence, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization by PCR and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) of *Salmonella* spp. isolated from foods of animal origin in San Luis, Argentina. *Food Control*, 29(1), 49–54.

- FDA. (2010). National Antimicrobial Resistance Monitoring System – Enteric Bacteria (NARMS): 2010 Executive Report. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Retrieved from <http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialResistanceMonitoringSystem/UCM312360.pdf>
- FDA. (2011). The NARMS 2011 executive report. World Wide Web. Retrieved from <https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=296847>
- FDA. (2012a). Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Retrieved from <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodbornellnessContaminants/UCM297627.pdf>
- FDA. (2012b). National Antimicrobial Resistance Monitoring System – Enteric Bacteria (NARMS): 2010 Executive Report. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Retrieved from <http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialResistanceMonitoringSystem/UCM312360.pdf>
- FDA, (2016). FDA NARMS Retail Meat Interim Report for *Salmonella* Shows Encouraging Early Trends Continue; Includes Whole Genome Sequencing Data for the First Time [WebContent]. Retrieved January 10, 2017, from <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/NewsEvents/CVMUpdates/ucm498038.htm>
- Fearnley, E., Raupach, J., Lagala, F., & Cameron, S. (2011). *Salmonella* in chicken meat, eggs and humans; Adelaide, South Australia, 2008. *International Journal of Food Microbiology*, 146(3), 219–227.

- Firoozeh, F., Shahcheraghi, F., Zahraei Salehi, T., Karimi, V., & Aslani, M. (2011). Antimicrobial resistance profile and presence of class I integrons among *Salmonella enterica* serovars isolated from human clinical specimens in Tehran, Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 3(3), 112–117.
- 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: MMBR*, 77(4), 582–607.
- FSIS. (2012). Verifying sanitary dressing and process control procedures by off-line inspection program personnel (ipp) in poultry slaughter operations.
- FSIS. (2016). Pathogen Reduction – *Salmonella* and *Campylobacter*: performance standards verification testing. Retrieved from http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/b0790997-2e74-48bf-9799-85814bac9ceb/28_IM_PR_Sal_Campy.pdf?MOD=AJPERES
- García, B. M. (2006). Higiene e inspección de carnes. Ediciones Díaz de Santos.
- Ghafir, Y., China, B., Korsak Koulagenko, N., Dierick, K., Collard, J.-M., Godard, C., Daube, G. (2006). Belgian Surveillance Plans to Assess Changes in *Salmonella* Prevalence in Meat Production Stages. *Feedinfo News Service Scientific Reviews*, (available from URL <http://www.feedinfo.com>). Retrieved from
- Goode, D., Allen, V. M., & Barrow, P. A. (2003). Reduction of Experimental *Salmonella* and *Campylobacter* Contamination of Chicken Skin by Application of Lytic Bacteriophages. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(8), 5032–5036.
- Grüner, H., & Metz, R. (2005). *Procesos de cocina*. Ediciones AKAL.
- Andrews W., Jacobson A., & Hammack T. (2014). Bacteriological Analytical Manual [WebContent]. Retrieved June 7, 2015, from <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>

- Haley, B. J., Cole, D. J., & Lipp, E. K. (2009). Distribution, Diversity, and Seasonality of Waterborne *Salmonella* in a Rural Watershed. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(5), 1248–1255.
- Hanh, T. T., Thanh, N. T., Thoa, H. Q., Thi, L. T., Thuan, L. M., & Ly, N. T. h. (2006). Prevalence of *Salmonella* spp. in Poultry in Vietnam. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1081(1), 266–268.
- Hara-Kudo, Y., Konuma, H., Kamata, Y., Miyahara, M., Takatori, K., Onoue, Y., Ohnishi, T. (2013). Prevalence of the main food-borne pathogens in retail food under the national food surveillance system in Japan. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30(8), 1450–1458.
- Harrison, W. a., Griffith, C. j., Tennant, D., & Peters, A. c. (2001). Incidence of *Campylobacter* and *Salmonella* isolated from retail chicken and associated packaging in South Wales. *Letters in Applied Microbiology*, 33(6), 450–454.
- Hellberg, R. S., Haney, C. J., Shen, Y., Cheng, C.-M., Williams-Hill, D. M., & Martin, W. B. (2012). Development of a custom 16S rRNA gene library for the identification and molecular subtyping of *Salmonella enterica*. *Journal of Microbiological Methods*, 91(3), 448–458.
- Hong, S., Rovira, A., Davies, P., Ahlstrom, C., Muellner, P., Rendahl, A., Alvarez, J. (2016). Serotypes and Antimicrobial Resistance in *Salmonella enterica* Recovered from Clinical Samples from Cattle and Swine in Minnesota, 2006 to 2015. *PLOS ONE*, 11(12), e0168016.
- Huang, J., Zong, Q., Zhao, F., Zhu, J., & Jiao, X. (2015). Quantitative surveys of *Salmonella* and *Campylobacter* on retail raw chicken in Yangzhou, China. *Food Control*, 59, 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.05.009>

- Huezo, R., Northcutt, J. K., Smith, D. P., Fletcher, D. L., & Ingram, K. D. (2007). Effect of dry air or immersion chilling on recovery of bacteria from broiler carcasses. *Journal of Food Protection*, 70(8), 1829–1834.
- Huong, L. Q., Reinhard, F., Padungtod, P., Hanh, T. T., Kyule, M. N., Baumann, M. P. o., & Zessin, K. H. (2006). Prevalence of *Salmonella* in Retail Chicken Meat in Hanoi, Vietnam. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1081(1), 257–261.
- Im, M. C., Jeong, S. J., Kwon, Y.-K., Jeong, O.-M., Kang, M.-S., & Lee, Y. J. (2015). Prevalence and characteristics of *Salmonella* spp. isolated from commercial layer farms in Korea. *Poultry Science*, 94(7), 1691–1698.
- Iseri, O., & Erol, I. (2010). Incidence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. in ground turkey meat. *British Poultry Science*, 51(1), 60–66.
- ISO. (2007). ISO 6579 2002. Retrieved from http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=29315
- Ivanova, M., Singh, R., Dharmasena, M., Gong, C., Krastanov, A., & Jiang, X. (2014). Rapid identification of *Campylobacter jejuni* from poultry carcasses and slaughtering environment samples by real-time PCR. *Poultry Science*, 93(6), 1587–1597.
- Jarquín, C., Alvarez, D., Morales, O., Morales, A. J., López, B., Donado, P., ... Alali, W. Q. (2015). *Salmonella* on Raw Poultry in Retail Markets in Guatemala: Levels, Antibiotic Susceptibility, and Serovar Distribution. *Journal of Food Protection*, 78(9), 1642–1650.
- Jiménez, S. m., Tiburzi, M. c., Salsi, M. s., Moguilevsky, M. a., & Pirovani, M. e. (2009). Survival of *Salmonella* on refrigerated chicken carcasses and subsequent transfer to cutting board. *Letters in Applied Microbiology*, 48(6), 687–691.

- Jordan, E., Egan, J., Dullea, C., Ward, J., McGillicuddy, K., Murray, G., ... McDowell, S. (2006). *Salmonella* surveillance in raw and cooked meat and meat products in the Republic of Ireland from 2002 to 2004. *International Journal of Food Microbiology*, 112(1), 66–70.
- Kagambèga, A., Haukka, K., Siitonen, A., Traoré, A. S., & Barro, N. (2011). Prevalence of *Salmonella enterica* and the Hygienic Indicator *Escherichia coli* in Raw Meat at Markets in Ouagadougou, Burkina Faso. *Journal of Food Protection*, 74(9), 1547–1551.
- Kanistanon, K. (1997). Correlation of environmental temperature, precipitation, and humidity with *Salmonella* culture results from cattle in Virginia. Retrieved from <https://vtechworks.lib.vt.edu/handle/10919/37040>
- Keklik, N. M., Demirci, A., & Puri, V. M. (2010). Decontamination of unpackaged and vacuum-packaged boneless chicken breast with pulsed ultraviolet light. *Poultry Science*, 89(3), 570–581.
- Kim, M.-S., Lim, T.-H., Jang, J.-H., Lee, D.-H., Kim, B.-Y., Kwon, J.-H., ... Song, C.-S. (2012). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* species isolated from chicken meats produced by different integrated broiler operations in Korea. *Poultry Science*, 91(9), 2370–2375.
- Kovats, R. S., Edwards, S. J., Hajat, S., Armstrong, B. G., Ebi, K. L., & Menne, B. (2004). The effect of temperature on food poisoning: a time-series analysis of salmonellosis in ten European countries. *Epidemiology and Infection*, 132(3), 443–453.
- Koyuncu, S., & Haggblom, P. (2009). A comparative study of cultural methods for the detection of *Salmonella* in feed and feed ingredients. *BMC Veterinary Research*, 5, 6.

- Lee, S.-K., Choi, D., Kim, H.-S., Kim, D.-H., & Seo, K.-H. (2016). Prevalence, Seasonal Occurrence, and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* spp. Isolates Recovered from Chicken Carcasses Sampled at Major Poultry Processing Plants of South Korea. *Foodborne Pathogens and Disease*.
- Li, R., Lai, J., Wang, Y., Liu, S., Li, Y., Liu, K., Wu, C. (2013). Prevalence and characterization of *Salmonella* species isolated from pigs, ducks and chickens in Sichuan Province, China. *International Journal of Food Microbiology*, 163(1), 14–18.
- Lin, C.-K., Hung, C.-L., Hsu, S.-C., Tsai, C.-C., & Tsen, H.-Y. (2004). An Improved PCR Primer Pair Based on 16S rDNA for the Specific Detection of *Salmonella* Serovars in Food Samples. *Journal of Food Protection*, 67(7), 1335–1343.
- Lin, C.-K., & Tsen, H.-Y. (1995). Development and evaluation of two novel oligonucleotide probes based on 16S rRNA sequence for the identification of *Salmonella* in foods. *Journal of Applied Bacteriology*, 78(5), 507–520.
- Lu, Y., Zhao, H., Sun, J., Liu, Y., Zhou, X., Beier, R. C., Hou, X. (2014). Characterization of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovars Indiana and Enteritidis from Chickens in Eastern China. *PLoS ONE*, 9(5).
- Madden, R. H., Moran, L., Scates, P., McBride, J., & Kelly, C. (2011). Prevalence of *Campylobacter* and *Salmonella* in Raw Chicken on Retail Sale in the Republic of Ireland. *Journal of Food Protection*, 74(11), 1912–1916.
- Maharjan, M., Joshi, V., Joshi, D. D., & Manandhar, P. (2006). Prevalence of *Salmonella* Species in Various Raw Meat Samples of a Local Market in Kathmandu. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1081(1), 249–256.

- Malorny, B., Hoorfar, J., Bunge, C., & Helmuth, R. (2003). Multicenter Validation of the Analytical Accuracy of *Salmonella* PCR: towards an International Standard. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1), 290–296.
- Mayrhofer, S., Paulsen, P., Smulders, F. J. M., & Hilbert, F. (2004). Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. *International Journal of Food Microbiology*, 97(1), 23–29.
- Mazengia, E., Samadpour, M., Hill, H. W., Greeson, K., Tenney, K., Liao, G., ... Meschke, J. S. (2014). Prevalence, Concentrations, and Antibiotic Sensitivities of *Salmonella* Serovars in Poultry from Retail Establishments in Seattle, Washington. *Journal of Food Protection*, 77(6), 885–893.
- McEgan, R., Mootian, G., Goodridge, L. D., Schaffner, D. W., & Danyluk, M. D. (2013). Predicting *Salmonella* Populations from Biological, Chemical, and Physical Indicators in Florida Surface Waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(13), 4094–4105.
- Medeiros, M. A. N., Oliveira, D. C. N. de, Rodrigues, D. dos P., & Freitas, D. R. C. de. (2011). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in chicken carcasses at retail in 15 Brazilian cities. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 30(6), 555–560.
- Meldrum, R. J., Tucker, D., Smith, R. M. M., & Edwards, C. (2005). Survey of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of whole, raw poultry on retail sale in Wales in 2003. *Journal of Food Protection*®, 68(7), 1447–1449.
- Meldrum, R. J., & Wilson, I. G. (2007). *Salmonella* and *Campylobacter* in United Kingdom Retail Raw Chicken in 2005. *Journal of Food Protection*, 70(8), 1937–1939.

- Mercado, M., Ávila, J., Rey, M., Montoya, M., Carrascal, A. K., & Correa, D. X. (2012). Outbreaks of *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* associated with poultry consumption. Systematic review. *Biomédica*, 32(3), 375–385.
- Milazzo, A., Giles, L. C., Zhang, Y., Koehler, A. P., Hiller, J. E., & Bi, P. (2016). The effect of temperature on different *Salmonella* serotypes during warm seasons in a Mediterranean climate city, Adelaide, Australia. *Epidemiology and Infection*, 144(6), 1231–1240.
- Miranda, J. M., Mondragon, A. C., Martinez, B., Guarddon, M., & Rodriguez, J. A. (2009). Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* from different raw foods in Mexico. *Journal of Food Protection*, 72(5), 966–971.
- Moats, W. A. (1978). Comparison of Four Agar Plating Media with and Without Added Novobiocin for Isolation of *Salmonella* from Beef and Deboned Poultry Meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 36(5), 747–751.
- Molla, B., Mesfin, A., & Alemayehu, D. (2004). Multiple antimicrobial-resistant *Salmonella* serotypes isolated from chicken carcass and giblets in Debre Zeit and Addis Ababa, Ethiopia. *Ethiopian Journal of Health Development*, 17(2), 131–139.
- Montes, G. A. A., Amador, N., España, R., Rostrán, V., Orellana, J., Vallecillo, M. P., Carranza, M. T. (2004). Brote de gastroenteritis por *Salmonella* enteritidis entre trabajadores de maquila en Naco, Honduras. *CONSEJO EDITORIAL*, 85.
- Morey, A., & Singh, M. (2012). Low-Temperature Survival of *Salmonella* spp. in a Model Food System with Natural Microflora. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(3), 218–223.

- NCBI. (2015). *Salmonella enterica*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/152>
- NOM-114-SSA1-1994. (n.d.). Retrieved April 6, 2016, from <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/114ssa14.html>
- Obando P. Isabel, & R. Murillo Mario. (1998). Pollos de Engorde Técnicas de Procesado. Editorial Universidad de Costa Rica.
- Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Shaker, R. R., Jaradat, Z. W., Taha, M., Al-Kherasha, M., ... Holley, R. (2014). Prevalence of *Salmonella* Serovars, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157:H7 in Mediterranean Ready-to-Eat Meat Products in Jordan. *Journal of Food Protection*, 77(1), 106–111.
- Oueslati, W., Rjeibi, M. R., Mhadhbi, M., Jbeli, M., Zrelli, S., & Ettriqui, A. (2016). Prevalence, virulence and antibiotic susceptibility of *Salmonella* spp. strains, isolated from beef in Greater Tunis (Tunisia). *Meat Science*, 119, 154–159.
- Owens, C. M. (2010). Poultry Meat Processing, *Second Edition*. CRC Press.
- Ozbey, G., & Tasdemir, B. (2014). Seasonality and antibiotic resistance of Campylobacterin Turkish chicken meat. *Veterinaria Italiana*, 50(4), 277–283.
- Patrick, M. E., Christiansen, L. E., Wainø, M., Ethelberg, S., Madsen, H., & Wegener, H. C. (2004). Effects of Climate on Incidence of Campylobacter spp. in Humans and Prevalence in Broiler Flocks in Denmark. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(12), 7474–7480.
- P. Whyte, J.D. Collins, K. Mc Gil, & E. Gormley. (2002). The prevalence and PCR detection of *Salmonella* contamination in raw poultry, 53–60.
- Pieskus, J., Milius, J., Michalskiene, I., & Zagrebneviene, G. (2006). The Distribution of *Salmonella* Serovars in Chicken and Humans in Lithuania. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 53(1), 12–16.

- Pui, C. F., Wong, W. C., Chai, L. C., Tunung, R., Jeyaletchumi, P., Noor Hidayah, M. S., Son, R. (2011). Review Article *Salmonella*: A foodborne pathogen, 18, 465–473.
- Radhika, M., Saugata, M., Murali, H. S., & Batra, H. V. (2014). A novel multiplex PCR for the simultaneous detection of *Salmonella enterica* and *Shigella* species. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(2), 667–676.
- Ravel, A., Smolina, E., Sargeant, J. M., Cook, A., Marshall, B., Fleury, M. D., & Pollari, F. (2010). Seasonality in human salmonellosis: assessment of human activities and chicken contamination as driving factors. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(7), 785–794.
- Reglamento (CE) no. 2073. (2005). Reglamento (CE) no. 2073/2005 de la comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.
- Reiter, M. G. R., Fiorese, M. L., Moretto, G., López, M. C., & Jordano, R. (2007). Prevalence of *Salmonella* in a poultry slaughterhouse. *Journal of Food Protection*, 70(7), 1723–1725.
- Rodriguez, J. M., Rondón, I. S., Verjan, N., Rodriguez, J. M., Rondón, I. S., & Verjan, N. (2015). Serotypes of *Salmonella* in Broiler Carcasses Marketed at Ibagué, Colombia. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 17(4), 545–552.
- SAGARPA. (2013). Calidad Microbiológica de la Carne de Pollo. Ajuchitlan, Colón, Queretaro. Retrieved from <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Documents/MANUALES%20INIFAP/19.%20Calidad%20microbiol%C3%B3gica%20de%20la%20carne%20de%20pollo.pdf>
- SAGARPA. (2015). México se ha convertido en potencia pecuaria, reconocida internacionalmente. Retrieved from <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/2012/Paginas/2015D005.aspx>

- Secretaria de salud. (2015). Boletín Epidemiológico. Retrieved from http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/dgae/boletin/intd_boletin.html
- SENASICA. (2015a). Establecimientos Tipo Inspección Federal. Retrieved from <http://www.senasica.gob.mx/?id=743>
- SENASICA. (2015b). Programa nacional de control de patógenos en establecimientos TIF de sacrificio de aves y productos de huevo. Retrieved from https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/118401/3.ProgramadePat_genosAvesyProd.deHuevo.pdf
- Shi, C., Singh, P., Ranieri, M. L., Wiedmann, M., & Moreno Switt, A. I. (2015). Molecular methods for serovar determination of *Salmonella*. *Critical Reviews in Microbiology*, 41(3), 309–325.
- Sodagari, H. R., Mashak, Z., & Ghadimianazar, A. (2015). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from retail chicken meat and giblets in Iran. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 9(5), 463–469.
- Soltan Dallal, M. M., Sharifi Yazdi, M. kazem, Mirzaei, N., & Kalantar, E. (2014). Prevalence of *Salmonella* spp. in Packed and Unpacked Red Meat and Chicken in South of Tehran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(4). <https://doi.org/10.5812/jjm.9254>
- Somma, M., & Querci, M. (2007). Análisis de la presencia de organismos genéticamente modificados en muestras de alimentos. *Extracción Y Purificación de ADN. European Comission JRC*, 6.
- Soomro, A. H., Khaskheli, M., Bhutto, M. B., Shah, G., Memon, A., & Dewani, P. (2010). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serovars isolated from poultry meat in Hyderabad, Pakistan. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 34(5), 455–460.

- Soultos, N., Koidis, P., & Madden, R. h. (2003). Presence of *Listeria* and *Salmonella* spp. in retail chicken in Northern Ireland. *Letters in Applied Microbiology*, 37(5), 421–423.
- Talavera Rojas, M., Rodríguez, R., Edith, N., Lagunas Bernabé, S., Fernández Rosas, P., Morales Erasto, V., & Soriano Vargas E., E. (2011). Variabilidad genética de aislamientos de *Salmonella typhimurium* (grupo B) obtenidos de hígados de pollo destinados para consumo humano. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 2(4), 371–380.
- Tankouo-Sandjong, B., Sessitsch, A., Liebana, E., Kornschöber, C., Allerberger, F., Hächler, H., & Bodrossy, L. (2007). MLST-v, multilocus sequence typing based on virulence genes, for molecular typing of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovars. *Journal of Microbiological Methods*, 69(1), 23–36.
- Tîrziu, E., Lazăr, R., Sala, C., Nichita, I., Morar, A., Şereş, M., & Imre, K. (2015). *Salmonella* in Raw Chicken Meat from the Romanian Seaside: Frequency of Isolation and Antibiotic Resistance. *Journal of Food Protection*, 78(5), 1003–1006.
- Trkov, M., & Avguštin, G. (2003). An improved 16S rRNA based PCR method for the specific detection of *Salmonella enterica*. *International Journal of Food Microbiology*, 80(1), 67–75.
- Ulloa, J., Gonzalez, M., Hernandez, C., Villanueva, M. P., & Fernandez, H. (2009). *Salmonella* Enteritidis in chicken carcasses and giblets in Southern Chile. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 4(2), 107–109.
- UNA. (2015). Indicadores Económicos (Compendio de Indicadores Económicos del Sector Avícola 2014). Retrieved from <http://www.una.org.mx/index.php/component/content/article/2-uncategorised/19-indicadores-economicos>

- UNA. (2016). Indicadores Económicos (Compendio de Indicadores Económicos del Sector Avícola 2014). Retrieved from <http://www.una.org.mx/index.php/component/content/article/2-uncategorised/19-indicadores-economicos>
- USDA. (2014). Retrieved September 17, 2015, from <http://www.ers.usda.gov/data-products/cost-estimates-of-foodborne-illnesses.aspx>
- Uyttendaele, M., de Troy, P., & Debevere, J. (1999). Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Listeria monocytogenes* in Poultry Carcasses and Different Types of Poultry Products for Sale on the Belgian Retail Market. *Journal of Food Protection*, 62(7), 735–740.
- Uyttendaele, M. R., Debevere, J. M., Lips, R. M., & Neyts, K. D. (1998). Prevalence of *Salmonella* in poultry carcasses and their products in Belgium. *International Journal of Food Microbiology*, 40(1–2), 1–8. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00012-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00012-9)
- Uzzau, S., Brown, D. J., Wallis, T., Rubino, S., Leori, G., Bernard, S., Olsen, J. E. (2000). Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*. *Epidemiology and Infection*, 125(2), 229–255.
- Wang, J., Wu, H., Song, M., Li, F., Zhu, J., Xi, M., Cui, S. (2013). Prevalence and quantitative detection of *Salmonella* in retail raw chicken in Shaanxi, China. *Journal of Food Protection*, 76(11), 1958–1962. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-168>
- WHO. (2007). Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. Retrieved March 9, 2016, from: <http://www.scacm.org/free/Antigenic%20Formulae%20of%20the%20Salmonella%20Serovars%202007%209th%20edition.pdf>
- WHO. (2013). OMS | *Salmonella* (no tifoidea). Retrieved June 4, 2015, from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/>

- Wong, T. L., Nicol, C., Cook, R., & MacDiarmid, S. (2007). *Salmonella* in uncooked retail meats in New Zealand. *Journal of Food Protection*, 70(6), 1360–1365.
- Woolston, J., Parks, A. R., Abuladze, T., Anderson, B., Li, M., Carter, C., Sulakvelidze, A. (2013). Bacteriophages lytic for *Salmonella* rapidly reduce *Salmonella* contamination on glass and stainless steel surfaces. *Bacteriophage*, 3(3). <https://doi.org/10.4161/bact.25697>
- Worcman-Barninka, D., Destro, M. T., Fernandes, S. A., & Landgraf, M. (2001). Evaluation of motility enrichment on modified semi-solid Rappaport–Vassiladis medium (MSRV) for the detection of *Salmonella* in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 64(3), 387–393.
- Yang, B., Qu, D., Zhang, X., Shen, J., Cui, S., Shi, Y., Meng, J. (2010). Prevalence and characterization of *Salmonella* serovars in retail meats of marketplace in Shaanxi, China. *International Journal of Food Microbiology*, 141(1–2), 63–72.
- Yang, H., Li, Y., & Johnson, M. G. (2001). Survival and Death of *Salmonella* Typhimurium and *Campylobacter jejuni* in Processing Water and on Chicken Skin during Poultry Scalding and Chilling. *Journal of Food Protection*, 64(6), 770–776.
- Yildirim, Y., Gonulalan, Z., Pamuk, S., & Ertas, N. (2011). Incidence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. on raw chicken carcasses. *Food Research International*, 44(3), 725–728.
- Yoon, R.-H., Cha, S.-Y., Wei, B., Roh, J.-H., Seo, H.-S., Oh, J.-Y., & Jang, H.-K. (2014). Prevalence of *Salmonella* Isolates and Antimicrobial Resistance in Poultry Meat from South Korea. *Journal of Food Protection*, 77(9), 1579–1582.
- Yun, J., Greiner, M., Höller, C., Messelhäusser, U., Rampp, A., & Klein, G. (2016). Association between the ambient temperature and the occurrence of human *Salmonella* and *Campylobacter* infections. *Scientific Reports*, 6, 28442.

- Zaidi, M. B., Calva, J. J., Estrada-Garcia, M. T., Leon, V., Vazquez, G., Figueroa, G., Tollefson, L. (2008). Integrated Food Chain Surveillance System for *Salmonella* spp. in Mexico. *Emerging Infectious Diseases*, 14(3), 429–435.
- Zaidi, M. B., McDermott, P. F., Fedorka-Cray, P., Leon, V., Canche, C., Hubert, S. K., Tollefson, L. (2006). Nontyphoidal *Salmonella* from Human Clinical Cases, Asymptomatic Children, and Raw Retail Meats in Yucatan, Mexico. *Clinical Infectious Diseases*, 42(1), 21–28.
- 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. *Letters in Applied Microbiology*, 55(4), 308–313.
- Zhao, C., Ge, B., De Villena, J., Sudler, R., Yeh, E., Zhao, S., Meng, J. (2001). Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* Serovars in Retail Chicken, Turkey, Pork, and Beef from the Greater Washington, D.C., Area. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(12), 5431–5436.
- Zhu, J., Wang, Y., Song, X., Cui, S., Xu, H., Yang, B., Li, F. (2014). Prevalence and quantification of *Salmonella* contamination in raw chicken carcasses at the retail in China. *Food Control*, 44, 198–202.