



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN  
BIOCIENCIAS Y CIENCIAS AGROALIMENTARIAS**

**EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR  
*SALMONELLA* EN PAVOS PREVIA A SU ENTRADA EN  
PLANTA DE SACRIFICIO. EFICACIA DE LAS MEDIDAS  
IMPLANTADAS PARA SU REDUCCIÓN Y CONTROL.**

**EVALUATION OF THE PREVALENCE OF SALMONELLA IN  
TURKEY IN STAGES PRIOR TO THE SLAUGHTERHOUSE.  
EFFECTIVENESS OF THE MEASURES IMPLEMENTED  
FOR REDUCTION AND CONTROL.**

**MEMORIA DE TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR  
NAZARET CANO VILCHES**

**DIRECTOR  
LUIS M. MEDINA CANALEJO**

**FEBRERO, 2020**

TITULO: *EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR SALMONELLA EN  
PAVOS PREVIA A SU ENTRADA EN PLANTA DE SACRIFICIO.  
EFICACIA DE LAS MEDIDAS IMPLANTADAS PARA SU REDUCCIÓN  
Y CONTROL.*

AUTOR: *Nazaret Cano Vilches*

---

© Edita: UCOPress. 2020  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

[https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/  
ucopress@uco.es](https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/ucopress@uco.es)

---



Tesis doctoral enmarcada en el Programa de Doctores en Empresas  
y cofinanciada por el Campus de Excelencia Internacional  
Agroalimentario (ceiA3), el Ministerio de Educación, Cultura y  
Deporte y el Banco Santander.



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE EDUCACIÓN, CULTURA  
Y DEPORTE



**Santander**  
Universidades





**TÍTULO DE LA TESIS: EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR *Salmonella* EN PAVOS PREVIA A SU ENTRADA EN PLANTA DE SACRIFICIO. EFICACIA DE LAS MEDIDAS IMPLANTADAS PARA SU REDUCCIÓN Y CONTROL**

**DOCTORANDO/A: NAZARET CANO VILCHES**

**INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS**

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

La Tesis que se presenta ha sido fruto de un programa de Tesis en empresas a través del Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario ceiA3, desde el Grupo de investigación PAIDI AGR0175 “Microbiología de los alimentos”.

La doctoranda se incorporó tardíamente al programa por lo que los plazos se debieron prorrogar, culminando, tras un excelente trabajo por su parte, en la memoria que acompaña.

La tesis se ha desarrollado en condiciones industriales, paralelamente a los procesos productivos y en las mismas condiciones de dicha producción.

La doctoranda ha cumplido todos los requisitos y realizado el trabajo con los estándares necesarios para hacerse acreedora al título de Doctora.

Los Materiales y la metodología han sido adecuados, y los resultados contrastados por su publicación en una revista indexada en JCR: “Archiv für Lebensmittelhygiene”.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 26 de febrero de 2020

Firma del director

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and lines, positioned above the name of the director.

Fdo.: Luis M. Medina Canalejo

## AGRADECIMIENTOS

Gracias a mi director de tesis, Luis Medina, por su paciencia durante estos 6 años, estando disponible siempre que lo he necesitado. Gracias por guiarme y prestarme su ayuda para que hoy pueda estar poniendo punto final a este periodo. Gracias por motivarme y tener palabras de ánimo cuando parecía que esto no acababa.

Gracias a la profesora Belén Huerta de la Universidad de Córdoba por su asesoramiento en el tratamiento estadístico de los resultados.

Gracias a la empresa en la que he desarrollado la tesis doctoral por estar abiertos a la innovación y la investigación, sabiendo que son herramientas que permiten el crecimiento de una compañía. Gracias por abrirme las puertas de su casa, y permitirme crecer en ella profesionalmente.

Gracias a Fran porque, a pesar de mi juventud y escasa experiencia, me dio la oportunidad de formarme a su lado. Gracias por todo lo que me has enseñado.

Gracias a todos los profesionales que forman o formaron parte de esta empresa y que me han ayudado, colaborando en pruebas, o simplemente con sus consejos. Gracias a los que además de compañeros son amigos. Gracias Cristina, Leo, Bea, Álvaro y Cris Álvarez. Gracias por escucharme, permitirme aprender a vuestro lado y, sobre todo, por transmitirme siempre vuestra alegría y entusiasmo. Gracias por estar ahí cuando las fuerzas flaqueaban.

Gracias, como no, a mi familia y amigos. Gracias por darme el empujoncito que a veces me faltaba.

Gracias a mi madre, María José. Gracias por confiar en mí, por impulsarme siempre a lograr mis sueños. Gracias por apoyarme de forma incondicional y preocuparte siempre por mis avances. Gracias porque lo que soy te lo debo a ti.

Gracias a mi hermano, Ismael. Gracias por el cariño que siempre me das y gracias por tu paciencia. Gracias por apoyarme y tener siempre para mí el mejor de los consejos.

Gracias a mi marido, Cristian. Gracias por estar siempre dispuesto a escucharme. Gracias por transmitirme tu optimismo, y contagiarme de las ganas e ilusión que le pones a todo lo que haces en la vida.

# ÍNDICE



## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	14
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	16
<b>ÍNDICE DE IMÁGENES</b> .....	18
<b>ÍNDICE DE ABREVIATURAS</b> .....	19
<b>RESUMEN</b> .....	23
<b>ABSTRACT</b> .....	27
<b>1. INDUSTRIA AVÍCOLA EN ESPAÑA. PRODUCCIÓN Y CONSUMO DE CARNE DE PAVO.</b> .....	33
1.1 Producción de pavos en España.....	33
1.2 Producción de carne de pavo en Europa y en el mundo .....	35
1.3 Importaciones y exportaciones de carne de pavo en España.....	36
1.4 Consumo de carne de pavo en España .....	37
<b>2. PAVO (<i>Meleagris gallopavo</i>)</b> .....	40
2.1 Origen de la especie .....	40
2.2 Especies y subespecies del género <i>Meleagris</i> .....	41
2.3 Domesticación de <i>Meleagris Gallopavo</i> .....	42
2.4 Introducción y difusión del pavo en Europa .....	45
<b>3. ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA. SALMONELLA SPP.</b> .....	47
3.1 <i>Salmonella spp.</i> .....	48
3.2 Impacto Socioeconómico de <i>Salmonella</i> No Tifoidea.....	50
3.3 Regulación Europea y Española para el Control de <i>Salmonella</i> en Manadas de Pavos .....	55
<b>4. PROCESO PRODUCTIVO EN CRIANZA DE PAVOS. PUNTOS CRÍTICOS DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA Y MEDIDAS DE CONTROL</b> .....	58
4.1 Puntos críticos de contaminación microbiológica y medidas de control .....	62

<b>5. PRINCIPALES MEDIDAS QUE PUEDEN SER APLICADAS PARA REDUCIR LA PREVALENCIA DE <i>SALMONELLA</i> EN LA CRIANZA DE PAVOS .....</b>	<b>65</b>
5.1 Bioseguridad: LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE GRANJAS.....	65
5.2 Mejora del manejo: ALCALINIZACIÓN DE LA CAMA.....	73
5.3 Mejora higiénica del agua: ACIDIFICACIÓN DEL AGUA DE BEBIDA..	79
5.4 Higiene del pienso: CONTROL DE PIENSOS EMPLEADOS PARA CRÍA Y ENGORDE.....	86
5.5 Higiene en el transporte de animales: LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE CAJAS, JAULAS Y VEHÍCULOS EMPLEADOS PARA EL TRANSPORTE DE PAVOS POR CARRETERA. ....	93
<b>6. OBJETIVOS DEL ESTUDIO REALIZADO .....</b>	<b>101</b>
6.1 Objetivo general .....	101
6.2 Objetivos específicos .....	101
<b>7. MATERIAL Y MÉTODO .....</b>	<b>105</b>
7.1 Aplicación y toma de muestra.....	105
7.1.1 Limpieza, desinfección y desinsectación de naves.....	105
7.1.2 Tratamiento de la cama .....	107
7.1.3 Acidificación del agua de bebida .....	109
7.1.4 Pienso .....	110
7.1.5 Limpieza y desinfección de sistemas de transporte.....	117
7.2 Determinación de <i>Salmonella</i> : VIDAS® .....	119
7.3 Análisis estadístico de resultados.....	124
<b>8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>127</b>
8.1 Bioseguridad: LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE GRANJAS.....	127
8.2 Mejora del manejo: ALCALINIZACIÓN DE LA CAMA.....	132
8.3 Mejora higiénica del agua: ACIDIFICACIÓN DEL AGUA DE BEBIDA	135
8.4 Higiene del pienso: CONTROL DE PIENSOS EMPLEADOS PARA CRÍA Y ENGORDE.....	138

8.5 Higiene en el transporte de animales: LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE CAJAS, JAULAS Y VEHÍCULOS EMPLEADOS PARA EL TRANSPORTE DE PAVOS POR CARRETERA.....	143
<b>9. CONCLUSIONES.....</b>	<b>151</b>
<b>10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>157</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>173</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1:** Producción Final Agraria 2007 y 2017 (valores corrientes a precios básicos en millones de euros).

**Tabla 2:** Datos de Explotaciones de pavos en España.

**Tabla 3:** Valores nutricionales de la carne de pavo.

**Tabla 4:** Valores nutricionales de las principales carnes magras consumidas en España.

**Tabla 5:** Especies y subespecies del género *Meleagris*.

**Tabla 6:** Distribución de los casos confirmados de salmonelosis humana en la UE, 2016-2018, para los 20 serotipos más frecuentes en 2018.

**Tabla 7:** Desinfectantes habituales en avicultura.

**Tabla 8:** Desinsectantes – Larvicidas y Adulticidas.

**Tabla 9:** Parámetros microbiológicos en agua de consumo humano.

**Tabla 10:** Relación entre contaminación con coliformes fecales del agua de bebida y presencia de *Salmonella* spp. en aves.

**Tabla 11:** Normas de rechazo de materias primas según humedad en la descarga.

**Tabla 12:** Puntos de control para peligros biológicos considerados en la producción de pienso y medidas aplicadas.

**Tabla 13:** Resultados para *Salmonella* tras Limpieza y Desinfección de Granjas de Recría y Granjas de Cebo.

**Tabla 14:** Resultados del  $\chi^2$  en la comparación antes-después de muestras positivas a *Salmonella* para cada ensayo realizado.

**Tabla 15:** *S. Enteritidis* testada frente al uso de desinfectantes diluidos en agua de laboratorio y agua de campo.

**Tabla 16:** Resultados para *Salmonella* en Cama Tratada con Cal.

**Tabla 17:** Resultados para *Salmonella* antes y después de realizar acidificación de agua de bebida en granjas.

**Tabla 18:** Efecto de ácido acético, ácido láctico y ácido fórmico sobre *Salmonella typhimurium* en buche y ciego de pollos de engorde.

**Tabla 19:** Efecto de la administración de ácido fórmico en agua de bebida sobre rendimiento y microbiota intestinal.

**Tabla 20:** Resultados para *Salmonella* en piensos producidos.

**Tabla 21:** Recuentos de *Enterobacteriaceae* y contaminación por *Salmonella* en piensos.

**Tabla 22:** Prevalencia de *Salmonella* en pienso granulado de pollo elaborado con ingredientes de origen animal y vegetal (mixto) así como de origen vegetal únicamente.

**Tabla 23:** Recuentos de *Salmonella* en ciego de pollos alimentados con pienso contaminado con diferentes serotipos de *Salmonella*, y tratados o no tratados con Bio-add™.

**Tabla 24:** Resultados para *Salmonella* en muestras de cajas empleadas para el transporte de pavos desde incubadora hasta granjas de recría.

**Tabla 25:** Resultados para *Salmonella* en muestras de cajas empleadas para transporte de pavos desde granjas de recría hasta granjas de cebo.

**Tabla 26:** Resultados para *Salmonella* en muestras de cajas empleadas para transporte de animales desde granjas de cebo hasta matadero.

**Tabla 27:** Orden de clasificación de los puntos de control muestreados en la línea de sacrificio según el número de muestras positivas para *Salmonella*.

**Tabla 28:** Resumen de los resultados de las siguientes manadas de pollos de engorde en el matadero (muestras positivas para *Salmonella* respecto del total de muestras analizadas).

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1:** Número de explotaciones por especies avícolas en España a fecha 1 de enero de 2017.

**Figura 2:** Distribución por países de la producción de carne de pavo en la UE en 2017.

**Figura 3:** Evolución del consumo per cápita y del autoabastecimiento de carne de aves en España.

**Figura 4:** Épocas de la Era Cenozoica, con el tiempo transcurrido (en millones de años).

**Figura 5:** Distribución de fósiles y pavos vivos, omitiendo registros del Pleistoceno tardío y Holoceno de *M.gallopavo* y *M.ocellata* dentro de su gama moderna.

**Figura 6:** Distribución prehispánica de *M.ocellata* y *M.gallopavo* en Mesoamérica, y ubicación de los emplazamientos arqueológicos.

**Figura 7:** Carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria: estimaciones de la OMS.

**Figura 8:** Carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria por subregión, causadas por peligros entéricos, 2010.

**Figura 9:** Principales costes relacionados con la infección por *Salmonella*.

**Figura 10:** Diagrama de flujo del proceso productivo de crianza de pavos para producción de carne.

**Figura 11:** Puntos de control en las etapas del proceso productivo para la crianza de pavos.

**Figura 12:** pH en las diferentes partes del sistema digestivo de las aves.

**Figura 13:** Formación de ácido hipocloroso e ion hipoclorito según pH del agua.

**Figura 14:** Diagrama de flujo en la producción de pienso.

**Figura 15:** Contenido de los diferentes pocillos del cartucho empleado en el ensayo VIDAS®.

**Figura 16:** Resultados de Limpieza y Desinfección en 17 gallineros.

**Figura 17:** Efecto de la aplicación de cal virgen sobre *Salmonella* spp (log10 ufc).

**Figura 18:** Recuentos de *S.typhimurium* que sobrevive en pienso tratado con Bio-add™ y pienso no tratado, contaminados después de tiempos diferentes de almacenamiento.

## ÍNDICE DE IMÁGENES

**Imagen 1:** *Meleagris gallopavo*.

**Imagen 2:** *Meleagris ocellata*.

**Imagen 3:** *Salmonella*.

**Imagen 4:** Limpieza en seco de la nave.

**Imagen 5:** Limpieza de la nave con agua.

**Imagen 6:** Cama colocada en el suelo de una nave.

**Imagen 7:** Algunos de los materiales que se emplean para la yacija.

**Imagen 8:** Bebedero de campana de una granja.

**Imagen 9:** Comederos de una granja.

**Imagen 10:** Pienso granulado.

**Imagen 11:** Carga de aves para su transporte.

**Imagen 12:** Reparto de cal con abonadora.

**Imagen 13:** Reparto manual de cal.

**Imagen 14:** Lavadora de jaulas en el muelle de descarga de animales en el matadero.

**Imagen 15:** Cartuchos y conos VIDAS®.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

**a.C:** Antes de Cristo

**AENOR:** Asociación Española de Normalización y Certificación

**AFNOR:** Asociación Francesa de Normalización

**APPCC:** Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos

**APVP:** Años Potenciales de Vida Perdidos

**ATP:** Trifosfato de Adenosina

**AVADs:** Años de Vida Ajustados por Discapacidad

**AVD:** Años Vividos con Discapacidad

**BEDCA:** Base de Datos Española de Composición de Alimentos

**Ca(OH)<sub>2</sub>:** Cal apagada

**CDC:** Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos

**CE:** Comisión Europea

**CEA:** Centro de Estudios Agropecuarios

**cm:** Centímetro

**cm<sup>2</sup>:** Centímetro cuadrado

**CO<sub>2</sub>:** Dióxido de carbono

**DALYs:** Años de Vida Ajustados por Discapacidad

**d.C:** Después de Cristo

**ECDC:** European Centre for Disease Prevention and Control

**EEUU:** Estados Unidos

**EFSA:** Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria

**ELFA:** Ensayo de Fluorescencia Ligado a Enzima

**EN:** Norma Europea

**ETA:** Enfermedades Transmitidas por Alimentos

**FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

**FEN:** Fundación Española de Nutrición

**FIFO:** First In, First Out = Primero dentro, Primero fuera

**g:** Gramo

**h:** Hora

**HOCl:** Ácido hipocloroso

**ISO:** Organización Internacional de Normalización

**Kcal:** Kilocaloría

**Kg:** Kilogramo

**Km:** Kilómetro

**LD:** Limpieza y desinfección

**LDD:** Limpieza, desinfección y desinsectación

**log:** Logaritmo

**m<sup>2</sup>:** Metro cuadrado

**MAGRAMA:** Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente

**MAPA:** Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación

**MAPAMA:** Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente

**mg:** Miligramo

**ml:** Mililitro

**MS:** Estados Miembros

**nm:** Nanómetros

**OCl<sup>-</sup>:** Ión hipoclorito

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**PCC:** Punto de Control Crítico

**PF:** Producción Final

**PFA:** Producción Final Agraria

**PFG:** Producción Final Ganadera

**ppm:** Partes por millón

**RD:** Real Decreto

**ref.:** Referencia

**REGA:** Registro General de Explotaciones Ganaderas

**SGPG:** Subdirección General de Productos Ganaderos

**SPR:** Recipiente de fase sólida

**UBV:** Ultra Bajo Volumen

**UE:** Unión Europea

**ufc:** Unidad formadora de colonia

**UNE:** Asociación Española de Normalización

**USA:** Estados Unidos de América

**USDA:** Departamento de Agricultura de los Estados Unidos

**WHO:** Organización Mundial de la Salud

**°C:** Grado centígrado

**µg:** Microgramo

**µl:** Microlitro

**%:** Tanto por ciento



# RESUMEN



La producción y comercialización de carne en España, en Europa y en el mundo han experimentado un notable crecimiento en las últimas décadas.

En España el sector ganadero, según datos del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, supuso en 2017 el 38'1% de la Producción Agraria. A su vez, la producción de carne de aves supuso en 2017 el 13.5% de la producción ganadera.

Debido a la importancia que tiene el sector ganadero, existen regulaciones específicas, en materia de sanidad, que tienen como finalidad garantizar la salud del consumidor y proteger al ganado, previniendo el contagio de enfermedades zoonóticas.

En las aves de corral, de los diferentes agentes zoonóticos que son objeto de vigilancia a nivel nacional y europeo, tienen especial importancia *Campylobacter* y *Salmonella*. Estos, según el informe de 2019 de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y del Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC) en 2018 causaron 246.571 y 91.857 casos en humanos, respectivamente.

En esta tesis doctoral se evalúan una serie de medidas destinadas a reducir la prevalencia de *Salmonella* en pavos en la fase ganadera, durante todas las etapas previas a la llegada de los animales al matadero para su sacrificio.

Las medidas adoptadas se centran en: (a) el control de la producción de piensos; b) la limpieza y desinfección de granjas, mediante termonebulización o pulverización, utilizando diferentes desinfectantes; c) el tratamiento de la cama usando  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ; d) el tratamiento del agua de bebida con una mezcla acidificante a base de ácido fórmico, ácido

ortofosfórico y ácido propiónico; y (e) la limpieza y desinfección de cajas, jaulas y vehículos.

Todas las medidas probadas demostraron ser efectivas, especialmente el control de la producción de pienso y los tratamientos para limpiar y desinfectar granjas, cajas, jaulas y vehículos, lo que resultó en la ausencia de *Salmonella* en todas las muestras analizadas. El tratamiento de la cama redujo el porcentaje de presencia de *Salmonella* en un 45'10% en las granjas de recría donde se aplicó, en comparación con las granjas de recría no tratadas, y en las granjas de engorde en un 17'47%. En cuanto al tratamiento del agua de bebida, el tratamiento llevado a cabo en las granjas de recría y engorde resultó en reducciones de 34'55% y 36'35%, respectivamente, con respecto a los porcentajes obtenidos en las granjas antes del tratamiento.

# ABSTRACT



The production and commercialization of meat in Spain, in Europe and in the world has had significant growth in the last decades.

In Spain, according to data from the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, livestock production was 38'1% of Agrarian Production in 2017. Also, poultry meat production was 13.5% of livestock production in 2017.

Due to the importance of the livestock sector, there are specific regulations, in terms of health, to guarantee consumer health and protect the animals, preventing zoonotic diseases.

In poultry, of the different zoonotic agents that are subject to surveillance at Spanish and European level, *Campylobacter* and *Salmonella* are especially important. These, according to the 2019 report of the European Food Safety Authority (EFSA) and the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) in 2018 caused 246,571 and 91,857 human cases, respectively.

This doctoral thesis evaluates a series of measures aimed at reducing the occurrence of *Salmonella* in turkeys bred, during all stages prior to the slaughterhouse stage.

The measures taken affect: (a) control of feed production; b) cleaning and disinfection of farms, by thermo-fogging or spraying, using different disinfectants; c) treatment of litter using  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ; d) treatment of drinking water with an acidifying mixture based on formic acid, orthophosphoric acid and propionic acid; and (e) cleaning and disinfection of boxes, cages and vehicles.

All the measures tested proved to be effective, especially the control of feed production and the treatments for cleaning and disinfecting farms, boxes, cages and vehicles, which resulted in the absence of *Salmonella* in all the samples tested. Treatment of the litter reduced the percentage

presence of *Salmonella* by 45'10% on untreated rearing farms, and on fattening farms by 17'47%. In terms of the treatment of drinking water, the treatment carried out in both rearing and fattening farms decreased the occurrence of *Salmonella* 34'55% and 36'35%, respectively, with respect to the percentages obtained on farms prior to treatment.

**INTRODUCCIÓN**

**Y**

**ANTECEDENTES**



## 1. INDUSTRIA AVÍCOLA EN ESPAÑA. PRODUCCIÓN Y CONSUMO DE CARNE DE PAVO.

La producción y la comercialización de carne en España, en Europa y en el mundo han experimentado un notable crecimiento en las últimas décadas.

En España, según datos de la Subdirección General de Productos Ganaderos del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), el sector ganadero aportó en 2017 el 38'1% de la Producción Final Agraria (PFA), un 3'3% más que en 2007 (SGPG MAPA, 2019).

Por su parte, la producción de carne de aves representó el 13'5% del total de la producción ganadera de España en 2017. Esto supuso un aumento de un 1'1% con respecto a 2007.

Tabla 1: Producción Final Agraria 2007 y 2017  
(valores corrientes a precios básicos en millones de euros).

Macro magnitudes	2007	2017
PFAves. Producción Final Aves	1.833	2.534
PFG. Producción F. Ganadera	14.777	18.756
PFA. Producción Final Agraria	42.490	49.166
PFH ( PFG = 100 )%	6,9	13,51
PFH ( PFA = 100 )%	2,4	5,15
PFH ( 2007 = 100)%	100	138,21

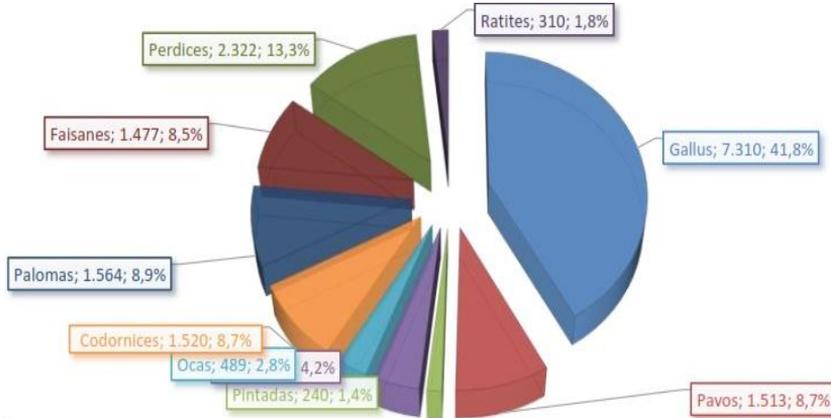
Fuente: S.G Productos Ganaderos MAPA (2019)

### 1.1 Producción de pavos en España

La producción moderna de pavos en España comienza a mediados de la década de los 60s, cuando se empiezan a importar reproductoras, huevos incubables e incluso pavitos de 1 día, con los que se obtienen pavos destinados a su venta en forma de canal entera (Dolz, 2009).

Veinte años más tarde crece la producción de pavos en España, debido a la aparición de nuevas empresas dedicadas a este sector productivo, que importan huevos incubables, del mercado francés, principalmente.

Figura 1: Número de explotaciones por especies avícolas en España a fecha 1 de enero de 2017.



Fuente: S.G.Productos Ganaderos MAPAMA (2017)

Desde ese momento, las explotaciones de pavos en el territorio español se incrementan progresivamente. Así, según datos del Registro General de Explotaciones Ganaderas (REGA), a comienzos de 2007 en España había 726 explotaciones de pavos, lo que representaba el 5'4% del total de explotaciones avícolas de España en ese momento. A fecha 1 de enero de 2017 el número de explotaciones de pavos en España había aumentado hasta 1.513 núcleos, lo que suponía el 8'7% del total de explotaciones de aves de nuestro país (SGPG MAPAMA, 2017). No obstante, en 2018 y 2019 se produce un nuevo aumento en el número de explotaciones de pavos y se alcanzan, en enero de 2019, las 1.796, lo que representa el 9'4% del total de granjas de aves (SGPG MAPA, 2019).

A comienzos de 2017, de las 1.513 explotaciones de pavos registradas en España, el mayor número se ubicaba en Andalucía, concretamente 542 de ellas, lo que representa el 35'8%. Le sigue Cataluña (212 explotaciones, 14%), Galicia (201 explotaciones, 13'3%) y la Comunidad Valenciana (131 explotaciones, 8'7%) (SGPG MAPAMA, 2017).

Tabla 2: Datos de Explotaciones de pavos en España.

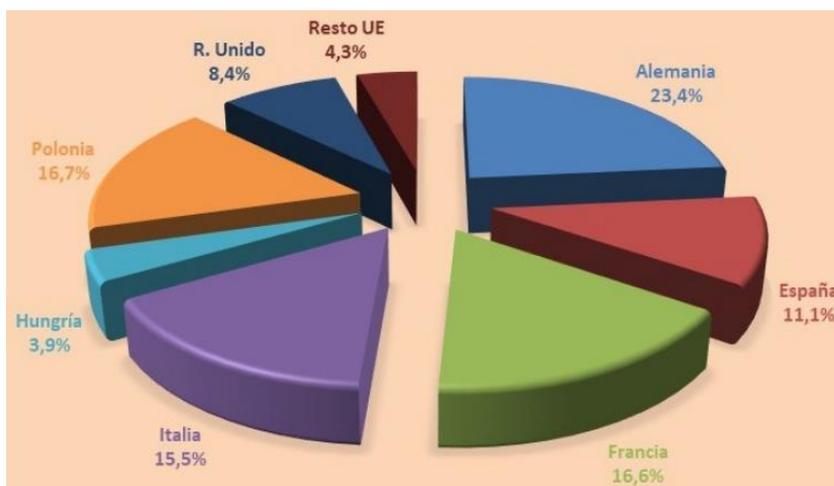
	2013		2017	
<b>EXPLOTACIONES AVÍCOLAS ESPAÑA</b>	<b>15.301</b>		<b>17.479</b>	
<b>EXPLOTACIONES DE PAVOS ESPAÑA</b>	<b>1.219</b>	8'0%	<b>1.513</b>	8'7%
Explotaciones de pavos Andalucía	<b>485</b>	39'8%	<b>542</b>	35'8%
Explotaciones de pavos Cataluña	<b>170</b>	13'9%	<b>212</b>	14'0%
Explotaciones de pavos Galicia	<b>133</b>	10'9%	<b>201</b>	13'3%
Explotaciones de pavos C.Valenciana	<b>80</b>	6'6%	<b>131</b>	8'7%

Fuente: S.G.Productos Ganaderos MAPAMA (2017)

## 1.2 Producción de carne de pavo en Europa y en el mundo

En la Unión Europea (UE) se produjeron en 2017 1'99 millones de toneladas de carne de pavo. España fue el productor del 11'1% de esta cantidad, con 220 mil toneladas. De esta forma, se situó como el quinto mayor productor de la Unión Europea, por detrás de Alemania, con el 23'4% del total; Polonia, con el 16'8%; Francia, con el 16'6% e Italia, con el 15'5% (SGPG MAPAMA, 2017).

Figura 2: Distribución por países de la producción de carne de pavo en la UE en 2017.



Fuente: S.G.Productos Ganaderos MAPAMA (2017)

En 2014 (no hay disponibles datos posteriores) se produjeron a nivel mundial 5'44 millones de toneladas de carne de pavo, de las cuales el 49'7% las produjo Estados Unidos (EEUU).

Le sigue, como mayor productor de carne de pavo, la Unión Europea, con el 35% de la producción mundial, Brasil con el 9'8% y, por detrás, Canadá con el 3% y Rusia con el 1'9% (SGPG MAPA, 2019).

### 1.3 Importaciones y exportaciones de carne de pavo en España

Según los datos de Estadísticas del Comercio Exterior del Ministerio de Industria, Comercio y Turismo (Datacomex), en 2018 España importó 37.305'89 toneladas de carne de pavo de la Unión Europea y exportó 35.665'31 toneladas en este mismo territorio (SGPG MAPA, 2019).

En este mismo año, el 37'8% de las importaciones intracomunitarias de carne de ave en general, procedían de Francia y las exportaciones, por su parte, estaban dirigidas en un 38% a Portugal y en un 35'8% a Francia.

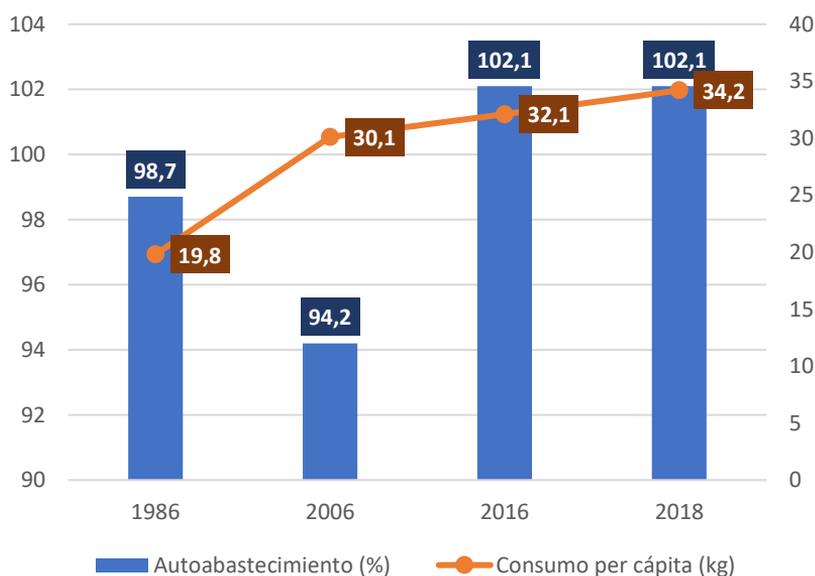
De carne de pavo en concreto, en 2018, España importó de la zona extracomunitaria 279'69 toneladas.

Por último, al mercado extracomunitario España exportó 16914'83 toneladas de carne de pavo (SGPG MAPA, 2019).

### 1.4 Consumo de carne de pavo en España

El consumo per cápita de carne de aves en España ha aumentado desde 1986 hasta 2018 en 14'4 kg/persona/año, pasando de 19'8 kg/persona/año a 34'2 kg/persona/año (SGPG MAPA, 2019).

Figura 3: Evolución del consumo per cápita y del autoabastecimiento de carne de aves en España.



Fuente: S.G.Productos Ganaderos MAPA (2019)

En cuanto al consumo de carne fresca de pavo en los hogares españoles, según datos del MAPAMA, entre 2011 y 2016 se produjo un incremento del 40'4%, pasando de consumir un total de 54.638 toneladas

en 2011 a consumir 76.710 toneladas en 2016. Este aumento se debe principalmente a que se ha pasado de tomar carne de pavo casi exclusivamente en la campaña navideña a un consumo estable a lo largo del año.

No obstante, en esos valores no están contemplados los elaborados y precocinados frescos de pavo. Según el Informe del Mercado de la Carne de Pavo 2017 de Alimarket, el consumo de estos, junto con los elaborados de pollo, en enero de 2017 fue de 73.100 toneladas (Alimarket, 2017).

El aumento del consumo de la carne de pavo en los hogares españoles, como carne fresca o como elaborados, se debe a que es percibida por los consumidores como carne saludable.

La carne de pavo se encuadra dentro de las carnes blancas. Tiene bajo contenido en grasa y porcentaje de agua elevado, siendo su aporte calórico moderado. Sin embargo, es rica en proteínas de alto valor biológico (FEN, 2007).

Tabla 3: Valores nutricionales de la carne de pavo.

	PAVO ENTERO	PECHUGA DE PAVO CON PIEL
Energía (kcal)	138	107
Agua (g/100g)	73'8	74'9
Proteína (g/100g)	19'7	24'12
Grasa total (g/100g)	6'5	0'99
Grasa saturada (g/100g)	2	0'358
Colesterol (mg/100g)	110	45

Fuente: BEDCA (2019)

Dentro del pavo, la carne más magra es la carne de pechuga, la cual contiene niveles mayores de vitamina A, ácido fólico, niacina, potasio y fósforo que otras carnes magras, como la pechuga de pollo y el lomo de cerdo. Por el contrario, su aporte de sodio es menor (BEDCA, 2019).

Tabla 4: Valores nutricionales de las principales carnes magras consumidas en España.

	PECHUGA DE PAVO	PECHUGA DE POLLO	LOMO DE CERDO
Energía (kcal)	107	105	152
Agua (g/100g)	74'9	75'7	66
Proteína (g/100g)	24'12	23'1	18
Grasa total (g/100g)	0'99	1'2	8'9
Grasa saturada (g/100g)	0'358	0'33	3'28
Colesterol (mg/100g)	45	58	65
Vitamina A (µg/100g)	2	0'34	0
Folato (µg/100g)	7	4'8	3
Niacina (mg/100g)	11'567	8'7	4
Potasio (mg/100g)	333	255	212
Sodio (mg/100g)	46	65	63
Fósforo (mg/100g)	210	196	151

Fuente: BEDCA (2019)

## 2. PAVO (*Meleagris gallopavo*)

### 2.1 Origen de la especie

Aves parecidas al pavo han habitado Norteamérica durante millones de años, pero las primeras pruebas arqueológicas para el pavo moderno (*Meleagris gallopavo*) datan de hace 50 mil años (Smith, 2006).



Imagen 1: *Meleagris gallopavo*.

Fuente: [www.sci-news.com](http://www.sci-news.com)

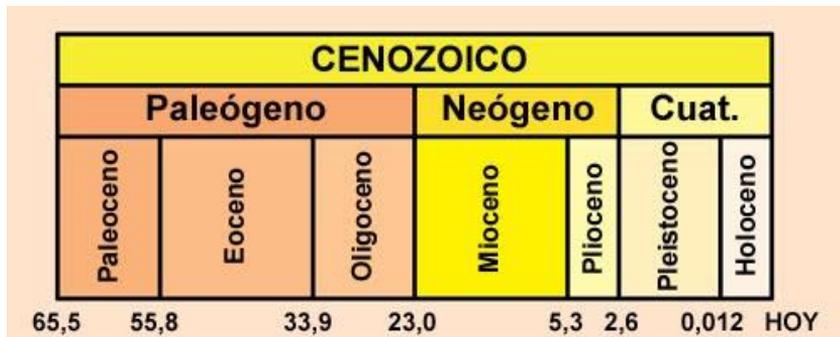
Existe la hipótesis de que los pavos evolucionaron de un ancestro que cruzó el estrecho de Bering cuando Alaska aún estaba conectada con Eurasia (Steadman, 1980).

El fósil más antiguo de un protopavo es *Rhegginormis calbates* del Mioceno Temprano en Florida. Tiene características de faisanes parecidos a pavos, así como de los pavos emergentes en el Nuevo Mundo (Camacho-Escobar et al., 2011).

El faisán asiático y la pintada africana son los parientes no extintos más cercanos al pavo moderno. El pavo americano y el faisán asiático están lo

suficientemente cerca genéticamente para que puedan generar descendencia mediante inseminación artificial. Las investigaciones proponen que evolucionaron de un antepasado común (Smith, 2006).

Figura 4: Épocas de la Era Cenozoica, con el tiempo transcurrido (en millones de años).



Fuente: <https://sites.google.com/site/fosilespatagonicos/eras-geologicas>

## 2.2 Especies y subespecies del género *Meleagris*

En el Pleistoceno el género *Meleagris* había evolucionado y estaba bien establecido. Poseía al menos cuatro especies, de las que solo permanece *Meleagris gallopavo*. Los restos fósiles más antiguos que se han encontrado son de esta época (con más de 10 mil años) y corresponden a especies extintas (Camacho-Escobar et al., 2011).

De *Meleagris gallopavo* se encontraron restos fósiles ubicados en el Pleistoceno en Nuevo León, México (Cracraft, 1968).

Pueden distinguirse, según el rango geográfico y las diferencias de plumaje, 7 subespecies de la forma silvestre. Estas son: Mejicano (*M.g.gallopavo*), Río Grande (*M.g.intermedia*), Merriam (*M.g.merriami*), Gould (*M.g.mexicana*), Eastern (*M.g.silvestris*), Moore (*M.g.oneusta*) y Florida (*M.g.osceola*) (Howard and Moore, 1984).

Tabla 5: Especies y subespecies del género *Meleagris*.

Género	Especie	Subespecie	Comentarios
<i>Agriocharis</i>	<i>A. ocellata</i>		Guajolote ocelado
<i>Meleagris</i>	<i>M. tularosa</i>		Extinto
	<i>M. crassipes</i>		Extinto
	<i>M. acellata</i>		Extinto
	<i>M. leopold</i>		Extinto
	<i>M. nichmondi</i>		Extinto
	<i>M. antiquus</i>		Extinto
	<i>M. alta</i>		Extinto
	<i>M. tridens</i>		Extinto
	<i>M. gallopavo</i>	<i>M. g. gallopavo</i>	Guajolote mexicano, guajolote sureño mexicano o guajolote silvestre mexicano Posiblemente extinto en vida silvestre. Actual guajolote doméstico
		<i>M. g. mexicana</i>	Guajolote norteño o pavo de Gould
		<i>M. g. intermedia</i>	Guajolote intermedio
	<i>M. g. merriani</i>	Guajolote de Merriani. Extinto en México	
	<i>M. g. silvestris</i>	Guajolote silvestre del Este	
	<i>M. g. osceola</i>	Guajolote de Osceola	

Fuente: Camacho-Escobar et al. (2011)

### 2.3 Domesticación de *Meleagris Gallopavo*

Solo dos aves fueron domesticadas en el Nuevo Mundo en tiempos precolombinos, el pato Muscovy (*Cairina moschata*) y el pavo (Smith, 2006).

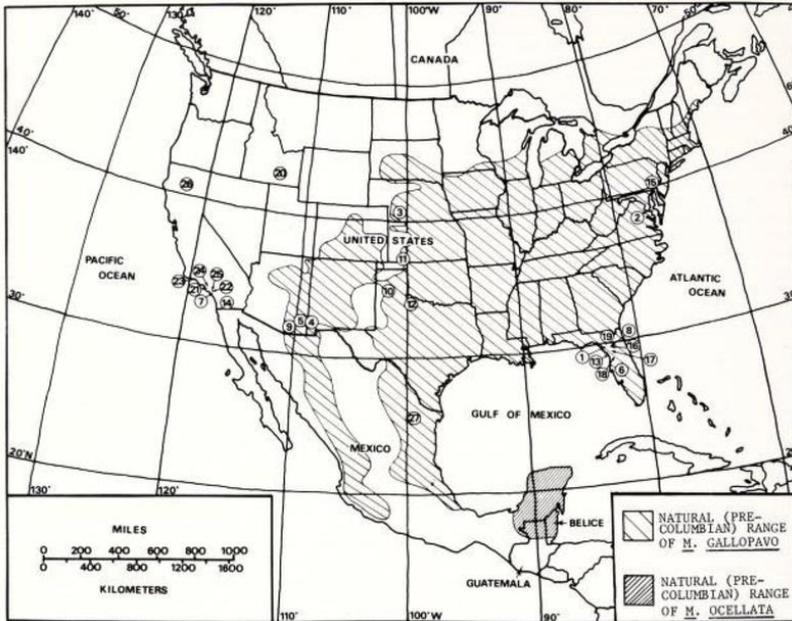
Se cree que la domesticación del pavo tuvo lugar hace cuatro o cinco mil años en la parte sur del Altiplano Mexicano y que de ahí se extendió en todas direcciones (Valadez et al., 2001).

En México, la subespecie *Meleagris gallopavo* fue domesticada por las diferentes civilizaciones, principalmente del Centro y del Sur del país (olmeca, maya y azteca) (Ángel-Hernández et al., 2014).

El progenitor salvaje de *M.gallopavo* se limitaba al este y suroeste de Estados Unidos y al centro/norte de México, al norte del Istmo de Tehuantepec. Por tanto, quedaba fuera de la región cultural Maya.

En el Área Maya el pavo ocelado (*Meleagris ocellata*) es la especie indígena.

Figura 5: Distribución de fósiles y pavos vivos, omitiendo registros del Pleistoceno tardío y Holoceno de *M.gallopavo* y *M.ocellata* dentro de su gama moderna.



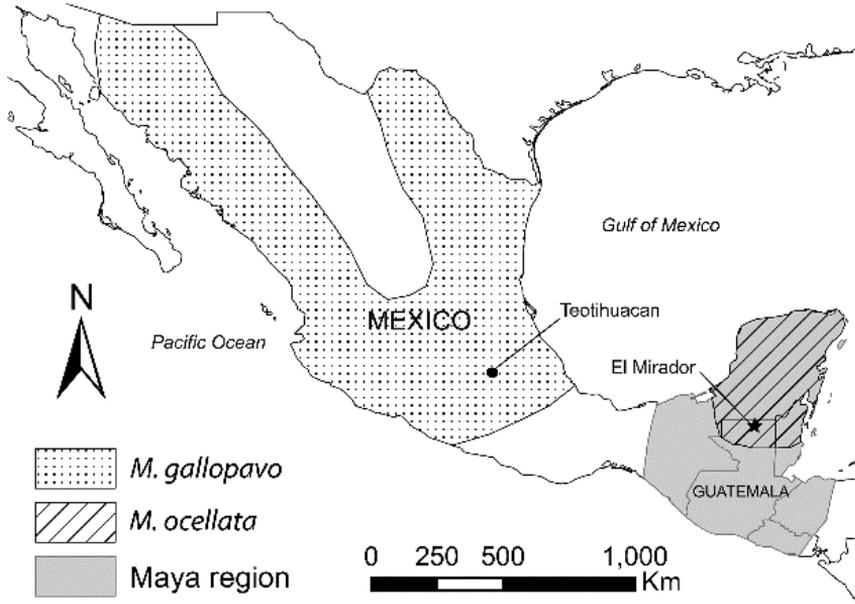
Fuente: Steadman (1980)

La primera evidencia del pavo mexicano en el antiguo mundo maya corresponde al Preclásico Tardío (300 a.C – 100 d.C), debido a restos fósiles de pavo hallados en el sitio arqueológico de El Mirador (Petén, Guatemala). Estos restos evidencian el intercambio de animales del norte de Mesoamérica a la región cultural maya (Thornton et al., 2012).

Los restos más antiguos de *M.gallopavo* que se han encontrado dentro de un contexto urbano y fuera de su rango de distribución geográfica “natural” es en el Valle de Tehuacán, actual estado de Puebla, México. Estos restos se fecharon en el año 180 a.C (Flannery, 1967).

El Valle de Tehuacán es una región seca, donde difícilmente el pavo silvestre se distribuía de manera natural, por lo que se piensa que se domesticó la especie (Camacho-Escobar et al., 2011).

Figura 6: Distribución prehispánica de *M. ocellata* y *M. gallopavo* en Mesoamérica, y ubicación de los emplazamientos arqueológicos.



Fuente: Thornton et al. (2012)

Al hallarse los restos de los pavos de El Mirador estos representan la evidencia indirecta más temprana para la domesticación del pavo en Mesoamérica. Entre los huesos se hallaron restos de pavos machos, hembras y subadultos (de menos de 2 años de edad). Algunos de ellos presentaban morfología de vuelo reducida, lo cual sugiere que fueron criados en cautividad y/o domesticados (Thornton et al., 2012).

Sin embargo, existe controversia, ya que diferentes autores sitúan la domesticación de la especie en diferentes lugares.

Para la Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) el posible lugar de domesticación del pavo es cerca del actual estado de Oaxaca, en fecha incierta pero posiblemente en la época correspondiente al Neolítico Europeo (FAO, 2005).

De lo que sí ha quedado constancia, y no existen dudas, es de que a lo largo de la historia prehispánica el valor material del pavo se basó en tres aspectos: carne y huevos como alimento; huesos, que se empleaban para la elaboración de herramientas; y plumas, que se empleaban para adornos y vestimentas (Valadez, 2003).

## 2.4 Introducción y difusión del pavo en Europa

Cuando en 1492 los conquistadores llegaron al continente americano conocieron en primer lugar al pavo ocelado (*Meleagris ocellata*) en la península del Yucatán. Esta especie, por su plumaje y por el hábito de abrir la cola en abanico les recordó al pavo real de la India (*Pavo cristatus*), entonces bastante común en España, de ahí que denominaran pavos a esta familia de aves americanas (Tudela de la Orden, 1993).



Imagen 2: *Meleagris ocellata*.

Fuente: [www.flickr.com](http://www.flickr.com)

Los indígenas llamaban al pavo mejicano “Huaxólotl”, nombre que los españoles no eran capaz de pronunciar. Lo nombraron guajolote, nombre que se generalizó (Salazar, 1990).

Los guajolotes llegaron a Europa a comienzos del siglo XVI llevados por los españoles. De España pasaron sucesivamente a Inglaterra y a otros países europeos (CEA, 2001).

La primera llegada de la que se tiene certeza de pavos a España tiene lugar en los años 1511 y 1512 (Schorger, 1966). En un documento, con fecha 24 de octubre de 1511, el Obispo de Valencia da orden de que en cada barco que venga del Nuevo Mundo se traigan a Sevilla diez pavos, mitad macho y mitad hembra, para su crianza.

La difusión a otros países europeos fue muy rápida y para el año 1556 ya se había introducido en Italia, Alemania, Francia, Inglaterra, Dinamarca, Noruega y Suecia (Schorger, 1966).

La velocidad con que los pavos se difundieron por toda Europa nunca se ha explicado adecuadamente. Se estima que los pollos se trasladaron de Asia a Europa a razón de 1'5 a 3 kilómetros por año. Para la propagación de los pavos a principios del siglo XVI se estima una velocidad aproximada de 40 a 50 km/año (Carter, 1971).

La reproducción natural no podría haber sostenido esa tasa. Se ha especulado con que desde América a España se realizaron envíos masivos de aves vivas que han pasado desapercibidas (Crawford, 1984).

Posteriormente, los colonizadores ingleses, a principios del siglo XVII, trasladaron de nuevo pavos al norte de América, concretamente a Estados Unidos y Canadá, donde el uso principal fue el alimentario (Ángel-Hernández et al., 2014).

### 3. ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA. SALMONELLA SPP.

Para el sector ganadero existen regulaciones específicas, en materia de sanidad, que tienen como finalidad garantizar la salud del consumidor y proteger al ganado, previniendo el contagio con enfermedades zoonóticas.

Las zoonosis son enfermedades que se transmiten entre los animales y el hombre de forma natural. Las transmitidas por alimentos causan daños a los seres humanos y pérdidas económicas en la industria agroalimentaria.

Para minimizar estos perjuicios, la Directiva 2003/99/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos, tiene por finalidad, además de la vigilancia propiamente dicha, la recopilación de información para evaluar tendencias y fuentes de estas enfermedades. La recogida y el análisis de datos se realizarán en aquel eslabón de la cadena alimentaria que se considere más apropiado según las zoonosis de que se trate. Se podrá llevar a cabo en producción primaria o en cualquier otra fase de la cadena alimentaria.

Son objeto de vigilancia las zoonosis y agentes zoonóticos siguientes (Anónimo, 2003a):

- Brucelosis y sus agentes causales.
- Campilobacteriosis y sus agentes causales.
- Equinococosis y sus agentes causales.
- Listeriosis y sus agentes causales.
- Salmonelosis y sus agentes causales.
- Triquinosis y sus agentes causales.
- Tuberculosis por *Mycobacterium bovis*.
- *Escherichia coli* verotoxigénica.

De los agentes zoonóticos enumerados, en las aves de corral tienen especial importancia *Salmonella* y *Campylobacter*. De hecho, según el informe de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC) sobre zoonosis de 2018, en el que se recogen los datos aportados por 36 países europeos, campilobacteriosis, con 246.571 casos, es la enfermedad de transmisión alimentaria más común en humanos. Le sigue salmonelosis, con 91.857 casos confirmados (EFSA y ECDC, 2019).

### 3.1 *Salmonella* spp.

El género *Salmonella* está formado por un conjunto de bacterias que se agrupan en 2 especies, 6 subespecies y más de 2.500 serovariedades (Malorny et al., 2011).

Las 2 especies en que se divide el género son *S.enterica* y *S.bongori*, siendo patógena para el hombre únicamente *S.enterica*.

En cuanto a los serotipos, estos se definen según la expresión de antígenos de lipopolisacáridos somáticos y de antígenos flagelares (Cooke et al., 2007).

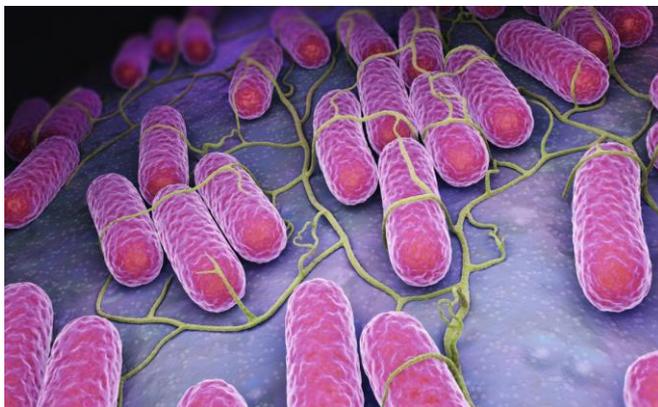


Imagen 3: *Salmonella*.

Fuente: [www.medicalnewstoday.com](http://www.medicalnewstoday.com)

Crece a temperaturas entre 5°C y 47°C, situándose el óptimo en 37°C. Con respecto al pH puede crecer entre 4'5 y 9'0, siendo óptimo entre 6'5 y 7'5 (Pascual, 2005).

*Salmonella* no suele causar enfermedad en la mayoría de las especies animales, pero sí que gran número de especies actúan como reservorio de esta bacteria. Esto hace que su papel en la dispersión de la contaminación, por medio de las heces, sea muy importante (MAGRAMA, 2013).

En el hombre, en cambio, es la causante de la enfermedad bacteriana denominada salmonelosis.

Dicha enfermedad suele manifestarse por enterocolitis aguda, con dolor abdominal, diarrea, náuseas, vómitos y, en la mayoría de los casos, fiebre (Heymann, 2005).

*S.Typhi*, *S.Paratyphi* y *S.Sendai* son las 3 únicas serovariedades que no son zoonóticas, ya que afectan de forma específica a humanos, causando las llamadas fiebres entéricas o fiebre tifoidea (Uribe y Suárez, 2006).

En 2018 en la UE se confirmaron 91.857 casos de salmonelosis en humanos, de los cuales 16.556 necesitaron ser hospitalizados y 119 resultaron en muerte (EFSA y ECDC, 2019). Esto conlleva un elevado gasto sanitario asociado a esta enfermedad.

En cuanto a los alimentos involucrados en la transmisión de la enfermedad, en 2016 fue la carne de ave donde se detectó *Salmonella* con más frecuencia. La carne de pavo y derivados, con un 7'74% de positivos, ocupa el primer lugar, seguida por carne de pollo y derivados, con un 6'39% (EFSA, 2017).

En 2015 en carne de pavo las serovariedades más frecuentes fueron, en este orden, *S.Stanley*, *S.Newport* y *S.Bredeney* (EFSA, 2016).

Tabla 6: Distribución de los casos confirmados de salmonelosis humana en la UE, 2016-2018, para los 20 serotipos más frecuentes en 2018.

Serovar	2018			2017			2016		
	Cases	MSs	%	Cases	MSs	%	Cases	MSs	%
Enteritidis(*)	39,781	27	49.9	38,781	27	49.2	33,325	25	47.4
Typhimurium(*)	10,395	27	13.0	10,590	27	13.4	9,789	25	13.9
Monophasic Typhimurium 1,4,[5],12:i:- (*)	6,427	17	8.1	6,322	16	8.0	6,340	16	9.0
Infantis(*)	1,859	26	2.3	1,803	26	2.3	1,658	24	2.4
Newport	1,086	21	1.4	920	24	1.2	758	17	1.1
Derby	710	23	0.9	612	23	0.8	620	20	0.9
Kentucky	663	22	0.8	617	19	0.8	559	19	0.8
Agona	602	18	0.8	645	20	0.8	452	16	0.6
Virchow(*)	541	24	0.7	510	21	0.6	509	20	0.7
Stanley	521	22	0.7	554	21	0.7	543	19	0.8
Bovismorbificans	465	18	0.6	344	20	0.4	393	20	0.6
Napoli	457	15	0.6	406	17	0.5	300	14	0.4
Coeln	443	20	0.6	265	21	0.3	139	15	0.2
Java	415	16	0.5	387	16	0.5	418	15	0.6
Chester	369	19	0.5	329	18	0.4	302	17	0.4
Saintpaul	324	20	0.4	330	21	0.4	456	20	0.6
Hadar(*)	312	20	0.4	334	19	0.4	274	17	0.4
Bareilly	299	16	0.4	427	18	0.5	262	15	0.4
Brandenburg	299	17	0.4	290	19	0.4	190	16	0.3
Braenderup	259	17	0.3	260	18	0.3	387	17	0.6
Other	13,471	-	16.9	14,174	-	17.7	12,564	-	17.9
<b>Total</b>	<b>79,698</b>	<b>27</b>	<b>100.0</b>	<b>78,900</b>	<b>27</b>	<b>100.0</b>	<b>70,238</b>	<b>25</b>	<b>100.0</b>

Fuente: EFSA y ECDC (2019)

En los casos de salmonelosis humana, sin embargo, en 2015 fueron *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* y *S. Typhimurium* monofásica los serotipos más habituales (EFSA, 2016). Estos también han sido las serovariedades más frecuentes en los casos en humanos reportados entre 2016 y 2018, con un 49'9%, un 13'0% y un 8'1% de casos, respectivamente (EFSA y ECDC, 2019).

### 3.2 Impacto Socioeconómico de *Salmonella* No Tifoidea

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son causa de morbilidad y mortalidad en todo el mundo (WHO, 2015).

Se estima que se producen 600 millones de contagios anuales a nivel mundial por consumo de alimentos contaminados, y que, por esta misma causa, fallecen 420.000 personas (OMS, 2017).

Los años de vida saludable perdidos corresponden con los DALYs (Disability Adjusted Life Years) o, en español, AVADs (Años de Vida Ajustados por Discapacidad). Este es un indicador de salud de la población en el que se combinan dos indicadores, Años Potenciales de Vida Perdidos (APVP) y Años Vividos con Discapacidad (AVD).

En estudios de carga de la enfermedad estos indicadores de salud son útiles porque permiten cuantificar las pérdidas de salud asociadas a las enfermedades (Alvis y Valenzuela, 2010).

Figura 7: Carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria: estimaciones de la OMS.

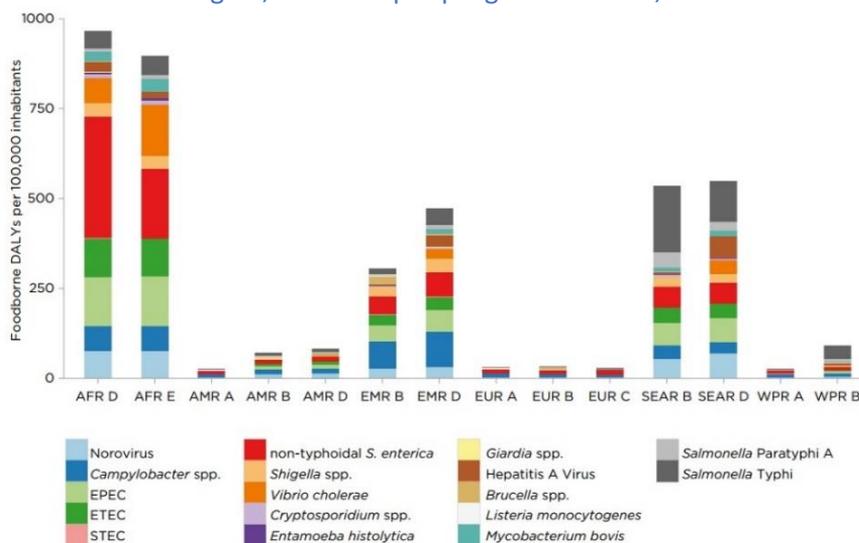


Fuente: WHO (2015)

A *Salmonella* (No Tifoidea) se le atribuyen 93 millones de infecciones y 155.000 muertes cada año (Ao et al., 2015). Según estos datos, *Salmonella* causa el 36'9% de los fallecimientos por ETA. Es, por tanto, una de las principales causas de enfermedad diarreica a nivel mundial.

En Europa (subregiones EUR A, EUR B y EUR C) son *Campylobacter* spp y *Salmonella* entérica no tifoidea los peligros entéricos que más contribuyen a la pérdida de años de vida saludables (medidos en DALYs por 100.000 habitantes).

Figura 8: Carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria por subregión, causadas por peligros entéricos, 2010.



Fuente: WHO (2015)

Las enfermedades de transmisión alimentaria son un problema de salud pública, que se agravan, entre otros motivos, por lo siguiente (González, 2005):

- Aumento en la frecuencia de infecciones.
- Nuevas formas de transmisión.
- Grupos de riesgo en la población, más vulnerables al contagio.
- Desarrollo de resistencia de los microorganismos a los compuestos antimicrobianos.

No obstante, la incidencia de la contaminación de los alimentos va más allá de las consecuencias directas sobre la salud pública y afecta al desarrollo económico, tanto en países desarrollados como en países en vías de desarrollo (OMS, 2016).

La OMS elaboró un informe con la estimación de la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria en el periodo 2007-2015. Dicho informe aporta datos sobre la carga y distribución de las ETA y pretende servir de ayuda a los políticos a la hora de decidir la asignación de recursos destinados al control de la inocuidad de los alimentos y a las intervenciones en este ámbito (WHO, 2015).

Como consecuencia de las ETA se generan gastos para las industrias agroalimentarias, las cuales tienen que retirar y destruir los productos afectados, pierden clientes por falta de confianza y tienen que hacer frente a sanciones.

De forma general, los motivos por los cuales las industrias se esfuerzan en proporcionar alimentos seguros son los siguientes (Hussain y Dawson, 2013):

- Para evitar pérdidas financieras debido a la pérdida de negocios.
- Para evitar gastos inesperados en retiros, eliminación y sanciones.
- Para evitar los costos legales debido a los brotes transmitidos por los alimentos.
- Para mantener la reputación de la compañía.
- Para mantener la confianza y lealtad del consumidor.
- Para cumplir las regulaciones y estándares del gobierno.
- Para garantizar el suministro de productos alimenticios seguros.
- Para aumentar las ventas y las exportaciones.

El costo estimado de los incidentes de seguridad alimentaria para la economía de EEUU es de alrededor de 7.000 millones de dólares por año, que proviene de la notificación a los consumidores, la eliminación de alimentos de los estantes y el pago de daños y perjuicios como resultado de demandas (Hussain y Dawson, 2013).

Los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC) estiman que son 15 los patógenos que causan más del 95% de las ETA, las hospitalizaciones y muertes cada año en EEUU, estando *Salmonella entérica* no tifoidea entre ellos.

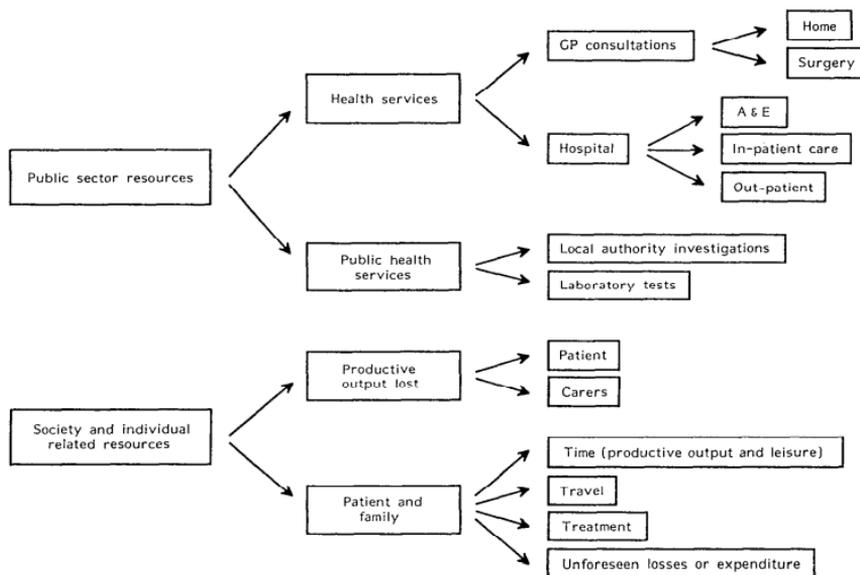
El coste estimado para *S.enterica* no tifoidea en Estados Unidos en el año 2013 fue de más de 3.666 millones de dólares, incluyendo costes médicos, muerte prematura y pérdida de productividad (USDA,2017).

En 1988/1989 se llevó a cabo una encuesta en Reino Unido para recopilar los costes socioeconómicos de las infecciones por *Salmonella*. Dichos costes se agruparon en dos áreas principales, costes para el erario público y costes para la sociedad y para el individuo afectado (Sockett, 1993).

En Dinamarca entre 1996 y 2002 se aplicó un programa de control de *Salmonella* en ponedoras comerciales y pollos de asador. Con él se logró reducir la incidencia de este patógeno, tanto en humanos como en aves (Mygind, 2004).

Se estimó que para 2001 dicho programa había permitido el ahorro de 25'5 millones de dólares (Wegener et al., 2003)

Figura 9: Principales costes relacionados con la infección por *Salmonella*.



Fuente: Sockett (1993)

### 3.3 Regulación Europea y Española para el Control de *Salmonella* en Manadas de Pavos

El Reglamento 2160/2003, sobre el control de la salmonela y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos, tiene como objetivo conseguir la disminución de la prevalencia de estas zoonosis, así como el riesgo que suponen para la salud pública. Para ello exige que se adopten medidas que permitan detectar y controlar los agentes zoonóticos a los que se refiere, en las fases de producción, transformación y distribución, prestando especial atención a la producción primaria (Anónimo, 2003b).

Para pavos, el Reglamento 2160/2003 dispone que debe establecerse un objetivo en la Unión Europea para reducir la prevalencia en producción

primaria de los serotipos de *Salmonella* con importancia para la salud pública.

Para ello, el Reglamento 584/2008, por el que se aplicaba el Reglamento 2160/2003 en pavos, recogió el objetivo comunitario en estos animales. Este consistió en reducir, a fecha 31 de diciembre de 2012, el porcentaje máximo de manadas de pavos positivas a *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium* al 1% o menos. Dicho objetivo se aplica tanto en manadas de pavos de engorde como en manadas de pavos de reproducción adultos (Anónimo, 2008).

Esta reducción es necesaria para poder dar cumplimiento a los criterios establecidos para carne fresca por el propio reglamento 2160/2003 así como por el Reglamento 2073/2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

La EFSA, según un dictamen científico emitido en marzo de 2012, observó que las medidas de control establecidas por la Unión Europea habían contribuido a reducir considerablemente los números de casos de salmonelosis en humanos asociados a pavos, respecto de los datos de 2007 (EFSA, 2012).

Para confirmar el objetivo comunitario se publicó posteriormente el Reglamento 1190/2012, el cual deroga al anterior Reglamento 584/2008.

En el Anexo I del Reglamento vigente se recoge lo relativo al programa de pruebas necesario para verificar la consecución del objetivo de la UE, indicando frecuencia y protocolo de muestreo que debe seguirse.

En cuanto a la frecuencia de muestreo, se recoge lo siguiente (Anónimo, 2012):

- Se tomarán muestras de todas las manadas de pavos de engorde y reproducción en las tres semanas previas al sacrificio.
- Se tomarán muestras de todas las manadas de pavos de reproducción en fase de cría en el primer día de edad, a las cuatro semanas de edad y dos semanas antes de ser trasladados a la fase de puesta.
- Se tomarán muestras de todas las manadas de pavos de reproducción adultos cada tres semanas durante el período de puesta.

Por otro lado, el Reglamento 2160/2003 recoge la obligación que tienen los Estados Miembros de establecer programas nacionales para alcanzar los objetivos comunitarios. Dichos programas nacionales tendrán en cuenta distribución geográfica de la zoonosis y consecuencias financieras para productores y operadores de empresas alimentarias (Anónimo, 2003b).

En España, el “Programa Nacional de Control de Determinados Serotipos de *Salmonella* en Pavos de Engorde y Reproducción 2019” incluye medidas de vigilancia y control en explotaciones, de aplicación en todo en todo el territorio nacional, para alcanzar la reducción en la prevalencia de *Salmonella* (MAPA, 2019).

#### **4. PROCESO PRODUCTIVO EN CRIANZA DE PAVOS. PUNTOS CRÍTICOS DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA Y MEDIDAS DE CONTROL.**

El proceso productivo de la cría de pavos comienza en los Centros de Multiplicación, donde se obtienen los huevos. Estos huevos se incuban posteriormente en el Centro de Incubación, donde tiene lugar el nacimiento de los animales, que serán criados en las diferentes granjas.

Durante el engorde se diferencian dos etapas:

- La primera de ellas, la recría, comprende desde que los pavos de 1 día llegan a la granja, procedentes de la Incubadora, hasta que estos tienen 28 días, alcanzando aproximadamente 1 kilogramo de peso.
- La etapa de cebo es la etapa que comprende desde que los pavos salen de las granjas de recría, con 28 días, hasta que completan el ciclo de cría antes de la salida a matadero. El tiempo total de cría es de entre 100 y 105 días para hembras y entre 120 y 125 días para machos.

En el primer día de vida se trasladan los pavos de 1 día desde el Centro de Incubación a las Granjas de Recría.

Estas explotaciones, tras la limpieza y desinfección, se preparan, desde 3 días antes, para la llegada de los animales.

Se reparte en el suelo homogéneamente el material que vaya a emplearse como yacija, de forma que su grosor sea de entre 10 y 15 cm y no haya diferencias de espesor a lo largo de la nave.

A continuación, se realiza el precalentamiento de las instalaciones para que tanto ambiente como cama estén a la temperatura adecuada, en torno a 38°C, a la entrada del animal.

Durante la crianza se controla que el pavo tenga cubiertas sus necesidades, en cuanto a accesibilidad y calidad, de pienso y de agua de bebida.

La explotación tiene que ventilarse para mantener la concentración de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) por debajo de 3.000 ppm, y evitar así que se acumule gas en el interior.

También se controla la temperatura y el porcentaje de humedad en la nave, de modo que no se supere el 50% hasta el día 21 de vida, y no sobrepase el 55% hasta el día 28.

Con respecto a la cama, esta tiene que permanecer seca, para lo que hay que voltearla cada 3-4 días, a fin de que no acumule excesiva humedad.

Tras 28 días en los recríos las aves se trasladan a las Explotaciones de Cebo.

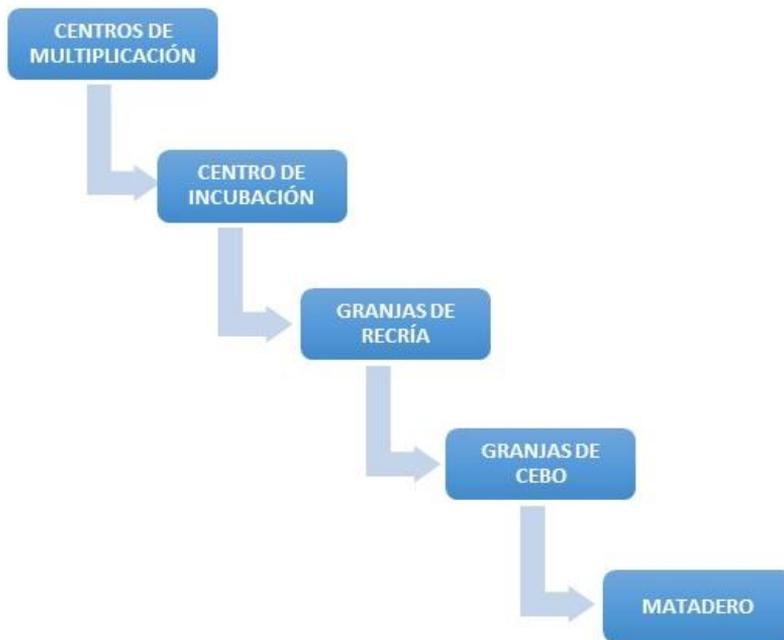
El transporte se tiene que realizar de forma que no provoque estrés al animal, ya que este dificulta la adaptación del pavo al nuevo espacio.

Para ello, carga y descarga se realizan de forma calmada, con movimientos suaves y por personal capacitado.

Se han de tener en cuenta las condiciones atmosféricas, evitando las horas centrales del día en verano y acondicionando el vehículo con lonas protectoras en invierno.

Ha de respetarse el tiempo de duración máxima del viaje, para evitar la pérdida excesiva de agua por el animal, ya que esto provoca su deshidratación.

Figura 10: Diagrama de flujo del proceso productivo de crianza de pavos para producción de carne.



*Fuente: propia.*

El manejo en Cebo tiene que estar orientado a garantizar el bienestar animal y producir canales de calidad.

En las 10-12 horas previas a la entrada de animales se realiza el precalentamiento de las naves, para que la temperatura en su interior sea superior a 25°C y la yacija no esté fría.

Introducidas las aves en estas explotaciones, se mantiene una intensidad lumínica alta para que los animales se habitúen al nuevo ambiente y accedan sin dificultad a pienso y agua de bebida. La intensidad de la luz afecta también a la regulación de actividad y descanso, lo que tiene repercusión en el bienestar del animal.

El pienso se suministra a los animales según el Plan de Alimentación, en el cual se tiene en cuenta la adecuación a las necesidades fisiológicas y nutricionales propias del sexo y de la edad del animal.

En el comedero el nivel de pienso tiene que ser tal que el animal pueda acceder a él de forma adecuada y que, a la vez, no se produzcan derrames por rebose. Si los animales ingieren pienso que ha estado en contacto con el suelo aumenta el riesgo de contaminación por bacterias y hongos.

Por otro lado, los silos de almacenamiento de pienso tienen que estar bien sellados y correctamente desinfectados, para evitar contaminación del pienso por contacto con el ambiente.

El animal tiene que tener disponibilidad permanente de agua para bebida, la cual tiene que ser adecuada en cuanto a su composición química y microbiológica. También se controlan parámetros físicos, como es el caso de la temperatura. Para el control de los parámetros microbiológicos puede ser necesario recurrir al uso de algún sistema de potabilización.

Por su parte, el sistema de ventilación tiene que ser capaz de eliminar el exceso de calor sin que, al mismo tiempo, se disipe más del necesario para mantener estable la temperatura de la nave.

Mediante la ventilación también se elimina el exceso de humedad, polvo y gases nocivos, a la vez que se renueva la atmósfera de la nave, para proporcionar el oxígeno necesario para la respiración del ave.

En cuanto al espacio donde se alojan los animales, también es importante el estado en el que se encuentra la cama o yacija, ya que el contacto del animal con ella es permanente durante todo el ciclo de crianza,

pudiendo transferir ésta los microorganismos que haya acumulado tras el depósito de las excretas.

Una vez concluido el periodo de cría los animales se trasladan a matadero, para su sacrificio y procesado.

El transporte debe realizarse en condiciones que no ocasionen estrés al animal, para que se obtengan canales de calidad.

Figura 11: Puntos de control en las etapas del proceso productivo para la crianza de pavos.



Fuente: propia.

#### 4.1 Puntos críticos de contaminación microbiológica y medidas de control

Para garantizar la seguridad alimentaria es necesario un planteamiento integrado, desde el lugar de producción primaria hasta la puesta en el mercado (Anónimo, 2004).

En la crianza de animales pueden aplicarse medidas preventivas o de control, con objeto de mantener la salud de estos (Moreno, 2006).

Los puntos de control crítico (PCC) son fases en las que puede aplicarse control y que son esenciales para reducir un peligro a un nivel aceptable (Codex Alimentarius Commission, 1993).

Por su parte, el análisis de riesgo se entiende como la gestión de aquellos riesgos que tienen efectos significativos en la reducción de un peligro.

En producción primaria la gestión debe realizarse de forma que se reduzca la probabilidad de introducción de peligros y contribuya a que la carne sea inocua y apta para el consumo humano (OMS/FAO, 2008)

Para garantizar la inocuidad de los alimentos de origen aviar se controlará la introducción y multiplicación de microorganismos a lo largo de la cadena productiva (Uribe y Suárez, 2006).

Para esto, en la crianza se aplicarán medidas para evitar el contacto de los animales con microorganismos.

Estás tendrán por objetivo preservar la calidad microbiológica de los alimentos que se le suministran, es decir, de pienso y agua de bebida, así como de la cama y del ambiente general de la instalación.

Además, para obtener aves con garantías sanitarias, es básico partir de un ambiente con adecuado estado higiénico.

Para ello se tiene que realizar una correcta limpieza y desinfección, así como llevar a cabo desinsectación y desratización antes de que los animales entren en la instalación.

Con estas acciones se interrumpe el ciclo biológico de agentes microbiológicos y de organismos que pueden actuar como vectores de enfermedad, como es el caso de insectos y roedores. Además, se eliminan polvo, patógenos y endotoxinas del entorno.

Para aminorar la contaminación de las aves durante la estancia en la granja, se debe evitar la introducción de entes microbiológicos y organismos transmisores de estos desde el exterior. Para ello las granjas deben disponer de barreras físicas que impidan el acceso.

Para la entrada de personas es necesario disponer de un paso sanitario a través del cual sea necesario pasar antes de proceder al acceso, y en el que se realice lavado de calzado y de manos.

Además, se debe usar ropa y calzado específico para la entrada en las granjas, que se colocará antes del paso por la barrera higiénica.

Para la desinfección de los vehículos que tienen que acceder a la instalación, para el transporte de animales o para el suministro de pienso u otros materiales, se deberá disponer de un arco de desinfección o sistema similar. También es necesario el paso de los vehículos por este sistema antes de la salida de la instalación.

Respecto a los animales muertos, deben retirarse fuera de la nave en el momento en que se detecten. Han de ser depositados en contenedores cerrados y eliminados de forma rápida y adecuada.

## 5. PRINCIPALES MEDIDAS QUE PUEDEN SER APLICADAS PARA REDUCIR LA PREVALENCIA DE *SALMONELLA* EN LA CRIANZA DE PAVOS

### 5.1 Bioseguridad: LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE GRANJAS.

En la Unión Europea, y también concretamente en España, se ha desarrollado una normativa específica para el control de zoonosis transmitidas por alimentos.

Es el caso de la Directiva 2003/99/CE sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos; del Reglamento 2160/2003 sobre el control de la salmonela y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos; y del Reglamento 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, entre otros.

En lo que a pavos reproductores y de engorde se refiere se han centrado especialmente en el control de *Salmonella spp.*

Además, en este mismo sentido, el MAPA elabora Programas Nacionales para la Vigilancia y Control de determinados serotipos de *Salmonella* en pavos.

El control de *Salmonella* está fundamentado principalmente en la mejora de la bioseguridad de las granjas.

La bioseguridad es entendida como las medidas aplicadas con objeto de evitar el contacto de animales con enfermedades infecciosas y parasitarias, así como la difusión de estas (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2005).

*Salmonella* puede ser introducida en las granjas a través de vehículos, personas, ropa y calzado, agua y pienso, insectos, roedores, aves silvestres, mascotas, utensilios y muchos otros factores (Van Immerseel et al., 2009).

Para evitar el contagio de los animales se debe controlar el crecimiento de microorganismos patógenos que resultan nocivos por sí mismos, pero también de aquellos otros organismos vivos, como insectos o roedores, que pueden ser reservorio o vectores de microorganismos.

Es por ello que las buenas prácticas de higiene que deben aplicarse en granjas avícolas incluyen correcta limpieza y desinfección, así como desratización de las naves de producción (MAGRAMA, 2016).

El protocolo de limpieza, desinfección y desinsectación (LDD) que se aplique en cada nave, así como la duración de cada una de las fases que lo conforman, dependerá de las características concretas de la instalación, pero en todos los casos contará con etapas comunes e incluirá la limpieza y desinfección de los conductos de agua y de los silos de almacenamiento de pienso (MAGRAMA, 2012).

En primer lugar, se retiran la cama y todas aquellas estructuras que pueden ser desmontadas, tales como bebederos, comederos y jaulas, en caso de que las haya.



Imagen 4: Limpieza en seco de la nave.

Tras esto se procede a realizar una limpieza en seco, mediante barrido o soplado, con objeto de eliminar materia orgánica y polvo.

A continuación, se realiza el lavado, empleando agua caliente con detergente. Después, se aclara con abundante agua limpia.



Imagen 5: Limpieza de la nave con agua.

Una limpieza adecuada, antes de proceder a la desinfección, es fundamental para que esta sea efectiva.

La materia orgánica puede actuar protegiendo a los microorganismos frente a la acción del desinfectante. Para la destrucción de estos es necesario el contacto directo entre desinfectante y microorganismo (Eguinoa y Lana, 2006).

La desinfección es el proceso por el cual se eliminan microorganismos que pueden causar infección, mediante empleo de productos químicos o agentes físicos (Block, 1991).

La desinfección de la nave puede realizarse por contacto o mediante desinfección aérea. Cuando es por contacto se realiza una dilución del desinfectante a aplicar, con agua, y se pulveriza la disolución, de forma que contacte con todas las superficies de la instalación. Para la desinfección

aérea se pueden emplear pastillas de formaldehído o termonebulización. En ambos casos, el primer paso es cerrar y sellar la nave para evitar fugas de los productos empleados.

Si se emplean pastillas de formaldehído la forma de proceder es la siguiente: se distribuyen dichas pastillas por la nave y se les prende fuego; acto seguido se apagan, lo que genera humo, que tiene acción desinfectante.

En el caso de la termonebulización lo que se emplean son termonebulizadores que generan una niebla muy fina, de forma que las partículas se dispersan por toda la nave (MAGRAMA, 2012).

En cualquier caso, se empleen pastillas de formaldehído o termonebulización, tras la desinfección se debe cerrar la nave y dejar actuar el tiempo que se indique como plazo de seguridad, que normalmente será de 24-36 horas.

Cuando se recurra al empleo de desinfectantes químicos, su elección se realizará en función de los siguientes criterios (AENOR, 2008):

- Tipo de microorganismo.
- Carga microbiana y umbral de tolerancia.
- Materiales y ambientes sobre los que se aplican.
- Tipo de instalaciones y estructuras.
- Método de limpieza anterior y posterior.
- Calidad del agua (características físico-químicas).
- Mecanismo de acción, tiempo de actuación y plazo de seguridad del producto.
- Persistencia de residuos en las superficies tratadas.
- Posibilidad de aparición de resistencias.

Entre los desinfectantes de uso corriente en sanidad animal, aunque existen otros, se encuentran: surfactantes ácidos aniónicos, surfactantes anfotéricos, bromuros, cloruros, clorhexidina, yoduros, compuestos fenólicos y amonios cuaternarios (Kahrs, 1995).

Tabla 7: Desinfectantes habituales en avicultura.

DESINFECTANTE	PROPIEDADES	COMENTARIOS
<b>Compuestos a base de cloro</b>	Bactericida Viricida	Corrosivo
<b>Compuestos organoclorados</b>	Genera cloro libre en agua	Se inactiva con materia orgánica Requiere elevado tiempo de contacto
<b>Iodóforos</b>	Yodo libre en agua Bactericida Viricida	No es corrosivo ni tóxico
<b>Peróxidos</b>	Amplio espectro antimicrobiano	Oxidante
<b>Aldehídos</b>	Amplio espectro antimicrobiano	Tóxico para humanos
<b>Amonios cuaternarios</b>	Amplio espectro bactericida	No efectivo con otros microorganismos Muy efectivos con glutaraldehído
<b>Fenoles</b>	Bactericida Débil viricida	Baja tolerancia a materia orgánica

*Fuente: Játiva (2005)*

Tras realizar la limpieza y desinfección es necesario comprobar que el sistema empleado ha sido eficaz. Para ello se verifica la ausencia de *Salmonella* mediante la recogida muestras ambientales. Se toma al menos 1 paño, de mínimo 900 cm<sup>2</sup>, de puntos representativos de la nave (suelo, paredes, comederos, bebederos, ventiladores de extracción, vigas y tuberías, entre otros) (MAPA, 2019).

Si con el muestreo se comprueba que la desinfección no ha sido eficaz, esta debe realizarse de nuevo, y volver a muestrear nuevamente.

Tras verificar que la desinfección ha sido adecuada, y si se detecta presencia de insectos en las instalaciones, se realiza la desinsectación.

Entre las medidas de bioseguridad que se aplican en granjas se incluyen medidas destinadas a impedir el acceso de estos organismos en las naves, mediante la protección de ventanas con mosquiteras y de otras vías de entrada. No obstante, en ocasiones es necesario el empleo de desinsectantes.

La aplicación del desinsectante se hace con termonebulizador, si se quiere una desinsectación generalizada, o con pulverizadores, si lo que se busca es una desinsectación localizada.

Tabla 8: Desinsectantes – Larvicidas y Adulticidas.

LARVICIDAS		
PRESENTACIÓN	APLICACIÓN	USO
<b>POLVO</b>	Vertido o en aerosol	Producciones ganaderas intensivas
<b>LÍQUIDO</b>	Vertido o en aerosol	Explotaciones ganaderas de grandes dimensiones
ADULTICIDAS		
PRESENTACIÓN	APLICACIÓN	USO
<b>POLVO</b>	Cebo esparcido	Todas las explotaciones ganaderas
<b>LÍQUIDO</b>	Pintura o spray	Explotaciones ganaderas de grandes dimensiones

*Fuente: MAGRAMA (2012)*

Para el control efectivo de los insectos se debe atacar tanto a larvas como a adultos. Los larvicidas atacan a las larvas impidiendo que pasen al estado adulto y los adulticidas afectan a la población adulta de insectos por destrucción de estos. Larvicidas y adulticidas pueden aplicarse en polvo o líquido, según las dimensiones de la explotación.

En la limpieza y desinfección de las instalaciones deben incluirse LD del sistema de agua de bebida y del sistema de alimentación.

El agua y el pienso, a su paso por los diferentes conductos, pueden dar lugar a biofilms. Estos se deben a la formación de una capa de polisacáridos que protege en su interior a las bacterias productoras de dichas biomoléculas. En este medio los microorganismos son capaces de multiplicarse y permanecer activos, sin ser atacados por los productos químicos que se emplean para la desinfección (Ruiz y Tabares, 2013).

Además de por la formación de biofilms, las conducciones se afectan por incrustaciones de tipo mineral, debidas a deposiciones de compuestos minerales arrastrados por el agua principalmente.

La acumulación de biofilms e incrustaciones, por el paso rutinario de agua y pienso, afecta al funcionamiento de las instalaciones, a la vez que expone a las aves a una mayor cantidad de microorganismos.

Con objeto de evitar esto se debe realizar LD de depósitos y tuberías de suministro de agua y de silos y sinfines repartidores de pienso.

El procedimiento para limpiar las conducciones de agua es el que se describe a continuación (Watkins, 2007):

- Se vacían las tuberías. Para ello se corta el paso de agua desde el depósito y se abren los grifos.

- Se bombea desde el depósito producto para la eliminación de biofilms. El peróxido de hidrógeno ha demostrado ser eficaz para este fin.
- Se abren los grifos para asegurar que los conductos se llenan con la solución higienizante y, a continuación, se cierran, para que exista contacto entre tubería y producto. El tiempo de contacto será el recomendado para cada producto concreto.
- Pasado este tiempo, se aclara el circuito con agua.
- Después de la limpieza y desinfección se utiliza un producto para eliminar las incrustaciones minerales.

En lo que respecta a la LD de silos se debe realizar a fin de que el pienso acumulado en su interior no se vea alterado, y no se mermen sus capacidades nutricionales ni proliferen en él microorganismos que puedan provocar la transmisión de enfermedades a los animales.

En primer lugar, se vacía el silo y los conductos repartidores. A continuación, se realiza una limpieza en seco para quitar todo resto de pienso adherido. Donde sea posible se realiza cepillado. Tras la limpieza se aplica el desinfectante, el cual debe ser de amplio espectro de acción, de forma que incida sobre gran número de bacterias y hongos. Si es necesario, en función del riesgo que se determine, se realiza desinsectación.

El otro peligro biológico que debe controlarse en las granjas de cría de aves son los roedores.

Para el control de roedores se pueden emplear métodos mecánicos o productos químicos.

Los métodos mecánicos consisten en la colocación de trampas, que capturan al animal vivo, pudiendo provocar o no su muerte, y en sistemas de ultrasonidos. Estos sistemas emiten sonidos a frecuencias que solo pueden oír este tipo de animales, resultándoles desagradables y provocando su huida.

Los métodos químicos utilizan rodenticidas, que son productos químicos que resultan agradables a los roedores, pero que provocan su muerte cuando los ingieren.

Tras la aplicación del protocolo de Limpieza, Desinfección, Desinsectación y Desratización tienen que transcurrir al menos 12 días antes de la introducción de la siguiente manada. Este periodo se denomina “periodo de vacío sanitario”.

En este tiempo se comprobará la eficacia de las operaciones realizadas mediante la toma de muestras (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2005).

Las muestras se toman cuando las instalaciones se han ventilado y los desinfectantes utilizados se han secado completamente. El análisis de estas muestras se realiza en laboratorios autorizados (MAGRAMA, 2004).

## **5.2 Mejora del manejo: ALCALINIZACIÓN DE LA CAMA**

Los modelos de producción de carne se pueden resumir en dos (López, 2001):

- Producción extensiva: bajos costes productivos y utilización de los recursos existentes.
- Producción intensiva: alta inversión de capital buscando obtener la máxima productividad.

En el sistema de producción intensiva las aves están confinadas bajo techo durante toda su vida, con el objetivo de tener controlados todos aquellos factores que afectan a la productividad (Vaca, 2010).

La intensificación de la producción de carne se relaciona con el esfuerzo realizado para obtener el máximo rendimiento de los animales.

Se utilizan animales seleccionados por su alto potencial productivo, a los que, para que puedan desarrollar su potencial genético en cuanto a rendimiento, se les administra alimentación formulada para cubrir las necesidades de nutrientes y se controla ventilación, temperatura y humedad del alojamiento (López, 2001).

El sistema de explotación intensiva es el más empleado en la producción avícola de carne y huevos en el mundo.

No obstante, en áreas rurales, pueden verse pavos criados en el campo o en semicautividad. Debido al ejercicio funcional desarrollado como consecuencia de la vida al aire libre las características organolépticas de los pavos así explotados son excelentes (Cantaro et al., 2010).

En cambio, con los sistemas de explotación intensivos se produce carne sin identidad específica, pero muy uniforme y a un precio muy competitivo, lo que se valora positivamente para el procesado y comercialización a gran escala (López, 2001).

En el caso en que la cría de aves para producción de carne se hace de forma intensiva y se realiza en suelo se debe usar una yacija que permita crear un ambiente en el que el crecimiento del animal sea el adecuado.

El ave tendrá contacto con la cama durante todo el periodo de cría, motivo por el cual ésta tiene elevada influencia sobre la vida de los animales.

La buena conservación del estado de la cama es fundamental para el buen desarrollo de las camadas, e indirectamente es un indicador de alteraciones en el manejo del ambiente de la nave.

Un manejo correcto de la cama es un aspecto crítico en avicultura, ya que una cama de calidad deficiente afecta negativamente a la salud y al desarrollo de las aves (Arellano, 2014).



Imagen 6: Cama colocada en el suelo de una nave.

Las funciones principales de la cama durante la cría de las aves son (Anónimo, 2014):

- Aislar térmicamente a los animales del suelo, para lo cual debe tener baja conductividad térmica.
- Actuar como aislante mecánico con respecto al suelo, motivo por el cual tiene que ser blanda.
- Absorber humedad, función para la que es importante que la cama se encuentre seca.

- Servir de cama, propiamente dicho, proporcionando bienestar a los animales.

En el Real Decreto 692/2010, de 20 de mayo, se establecen como condiciones para la cama empleada en la cría de pollos para producción de carne que esta debe estar seca y ser de material friable (Ministerio de la Presidencia, 2010).

Esto motivará la elección del material de la viruta que constituya la cama, ya que debe seleccionarse aquel que mejor cumpla con todas las funciones anteriormente mencionadas.

Generalmente, para la cama se suelen emplear virutas de madera, aunque pueden usarse materiales como cáscaras de cereales o arenas (Cantaro et al., 2010).

En España, concretamente, los principales materiales de elección son viruta de madera, especialmente de pino, cáscara de girasol y arroz, paja de cereales picada y mezcla de madera molida y picada (Arellano, 2014).



Imagen 7: Algunos de los materiales que se emplean para la yacija.

Además de las características mencionadas anteriormente, el material que se emplee para la cama no debe contener polvo ni altas concentraciones de compuestos tóxicos, y debe estar libre de bacterias y

otros microorganismos que, por contacto, por vía intestinal o por vía respiratoria causen enfermedades a las aves. Principalmente, deben controlarse hongos, *Escherichia coli*, coliformes totales y *Salmonella spp.*

A pesar de esto, en la yacija se acumula a lo largo de la cría el contenido fecal que las aves excretan. Por ello, la cama puede convertirse en reservorio de microorganismos, entre los cuales pueden existir patógenos como *Salmonella* o *Campylobacter*.

Por otro lado, las excretas contienen ácido úrico que las bacterias presentes en la cama pueden metabolizar generando amoníaco. El amoníaco cuando es inhalado por las aves afecta a sus mecanismos de defensa, lo cual las hace más susceptibles para contraer enfermedades respiratorias.

El control del nivel de este compuesto, por debajo de 20 ppm, y el control de microorganismos son los motivos principales por los que se realizan tratamientos de la cama.

Para el tratamiento de la cama se utilizan principalmente productos químicos, que se mezclan con esta durante el proceso de cría (Nahm, 2007).

Dichos productos pueden actuar acidificando o alcalinizando la cama, lo que tiene efecto sobre los microorganismos que se encuentran sobre ella y, consecuentemente, sobre la producción de amoníaco.

Los acidificantes provocan una variación en el pH original de la viruta o material empleado hasta niveles de pH en torno a 5. Esto inhibe a bacterias patógenas como *Salmonella* y *Escherichia coli*, a la vez que afecta la supervivencia de otras productoras de amoníaco. Por otro lado, estos productos tienen la capacidad de reaccionar con el amoníaco, generando

sales de amonio, las cuales debido a que no son gaseosas no se desprenden de la cama y no son respiradas por las aves (Turner, 2008).

Los alcalinizantes por su parte, también actúan impidiendo el desarrollo de gran parte de bacterias, pero en este caso la acción se debe a una subida del pH (Arellano, 2014).

Para la acidificación se puede emplear óxido de aluminio, dióxido de silicio, tierra de diatomea, sulfato de aluminio o bisulfato sódico, entre otros. Para aumentar el pH de la cama, en cambio, se emplea cal, viva o hidratada.

Los compuestos que contienen calcio, como la piedra caliza, pueden ser atractivos para su utilización debido a su bajo costo (Nahm, 2007).

El tratamiento de la cama con diferentes porcentajes de ácidos orgánicos, tales como cítrico, tartárico o salicílico también reduce el pH por debajo de 5, lo cual disminuye los recuentos de microorganismos y el contenido de amoniaco en la cama (Ivanov, 2001).

En ambientes con pH por debajo de 6 se inhibe el crecimiento de bacterias productoras de amoniaco y por debajo de 5 las condiciones son desfavorables para el desarrollo de bacterias del género *Salmonella* (Byrd, 1999).

Por su parte, si se añaden 300g/m<sup>2</sup> de cal viva en el suelo de las naves de cría de broilers se obtiene un aumento de pH hasta aproximadamente 10 y una reducción por encima del 80% del número de ufc/g de *Salmonella*. Con concentraciones mayores de cal viva se consigue una reducción del total de colonias de dicho patógeno presentes en la cama (Dai Pra et al., 2009).

Además de crear un ambiente hostil para los microorganismos por la variación de pH, la cal actúa provocando una reducción de la actividad de agua de la yacija.

### **5.3 Mejora higiénica del agua: ACIDIFICACIÓN DEL AGUA DE BEBIDA**

El agua es el componente mayoritario de todo ser vivo, también de las aves.

Se estima que el 75% del cuerpo del pavo en sus primeros estadios es agua, pudiendo alcanzar el 85% en el momento del nacimiento. En pavos adultos este porcentaje es inferior, pero se mantiene cercano al 70%.

Los piensos utilizados para la alimentación de los pavos tienen una humedad en torno al 12%, es decir, son piensos secos. Esto conlleva que la hidratación de estos animales tenga que realizarse mayoritariamente por medio del agua de bebida.

La cantidad de agua ingerida se ve influenciada por el tipo de alimentación, el peso del animal, la temperatura ambiente, la composición química y la temperatura del propio agua, entre otros factores (Cantaro et al., 2010).

Por otro lado, el agua que ingiere un ave también se relaciona de forma directa con la cantidad de pienso que consume el animal.

La relación agua/pienso puede variar entre 1.6 y 2.5 litros de agua por kilogramo de alimento ingerido (Rubio, 2005).

Otro factor de gran importancia en el consumo de agua es la temperatura ambiente. Cuando se supera la zona de confort térmico, es decir, cuando se sobrepasan los 21°C, el consumo de agua aumenta. Esto se debe a que para conseguir la regulación de la temperatura corporal las

aves jadean, lo que provoca pérdida de agua, que tiene que reponerse con la ingesta (Anónimo, 2011).



Imagen 8: Bebedero de campana de una granja.

Además de en la regulación de la temperatura corporal, el agua está involucrada en otros procesos fisiológicos y en diversas reacciones metabólicas.

El agua es uno de los componentes de los tejidos del animal; sirve de medio para el transporte de nutrientes y productos de desecho, facilitando su excreción; interviene en el control del equilibrio ácido-base; lubrica las articulaciones y es el medio donde tienen lugar las reacciones bioquímicas de los procesos digestivos y metabólicos (Quiles et al., 1998).

Su participación en todos estos procesos hace que sea un ingrediente esencial para la vida.

La ingesta de agua en las aves se realiza de forma frecuente, pero en pequeña cantidad cada vez. Es por esto que el aporte debe ser *ad libitum*, de forma que tengan disponible agua de forma continua. Así, se evita que se afecte el rendimiento del animal.

Al mismo tiempo que debe asegurarse el aporte de agua en cantidad, el ganadero debe velar por que el agua que suministra a los animales sea de calidad.

Aunque para el agua de consumo animal no se cuenta con regulación sobre los parámetros que deben controlarse y los límites aceptables para estos, se tiende a tomar como estándares de calidad los que se recogen en el Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano (Ruiz et al., 2013).

En el RD 140/2003 se indica que el agua de consumo humano deberá ser salubre y limpia, teniendo que cumplir una serie de requisitos microbiológicos y fisicoquímicos para que se considere adecuada. Los parámetros microbiológicos que deben controlarse en el agua y los valores asignados a cada uno de ellos son los siguientes:

Tabla 9: Parámetros microbiológicos en agua de consumo humano.

Parámetro	Valor paramétrico
1. Escherichia coli	0 UFC en 100 ml
2. Enterococo	0 UFC en 100 ml
3. Clostridium perfringens (incluidas las esporas)	0 UFC en 100 ml

*Fuente: Ministerio de la Presidencia (2003)*

Junto con estos parámetros microbiológicos en el agua de bebida de explotaciones avícolas se debe asegurar ausencia de *Salmonella spp.*

Para controlarlo se debe establecer un protocolo que garantice la eficacia del sistema de cloración o de cualquier otro método que asegure en todo momento una calidad bacteriológica satisfactoria del agua (MAGRAMA, 2004).

Si el agua no se acondiciona de forma adecuada puede ser fuente de enfermedades bacterianas, víricas y protozoarias.

En un estudio realizado con aves se comprobó que la ingesta de agua contaminada con coliformes fecales se relaciona de forma directa con la presencia de *Salmonella spp.* en dichas aves. Así, si los recuentos de coliformes en el agua eran de  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$ ,  $10^2$  y 10 ufc/g, se aisló *Salmonella* en el 100%, 99%, 66%, 33%, 21% y 11% de las aves, respectivamente (Amaral, 2004).

Tabla 10: Relación entre contaminación con coliformes fecales del agua de bebida y presencia de *Salmonella spp.* en aves.

COLIFORMES FECALES EN AGUA DE BEBIDA (ufc/g)	SALMONELLA SPP. EN AVES (%)
$10^6$	100%
$10^5$	99%
$10^4$	66%
$10^3$	33%
$10^2$	21%
10	11%

Fuente: Amaral (2004)

Además de los parámetros microbiológicos, también algunos parámetros fisicoquímicos han sido objeto de estudio para comprobar cómo afectan a la productividad de las explotaciones avícolas. Uno de los más frecuentemente estudiados es el pH.

El pH indica la acidez o alcalinidad del agua y suele variar entre 6'5 y 8'5, según la zona geológica de la que se extraiga el agua.

La bajada de pH en el agua tiene efecto sobre el agua en sí, ya que reduce su contaminación microbiana, actuando de forma directa sobre los microorganismos presentes en ella.

Además, se evita la formación de biofilm en el interior de los conductos de agua, al actuar sobre la flora y reducir la cantidad de esta que puede dar lugar a este fenómeno. De esta forma, se consigue agua con calidad biológica y se disminuye el riesgo de que sea transmisora de bacterias, virus o protozoos con potencial patógeno.

El beneficio obtenido por las mejoras en el agua redonda de forma indirecta en mejoras en el animal. Pero, además, de forma directa, la acidificación del agua tiene consecuencias sobre los animales.

Por medio del suministro de agua de bebida acidificada puede actuarse sobre el pH del sistema digestivo de las aves.

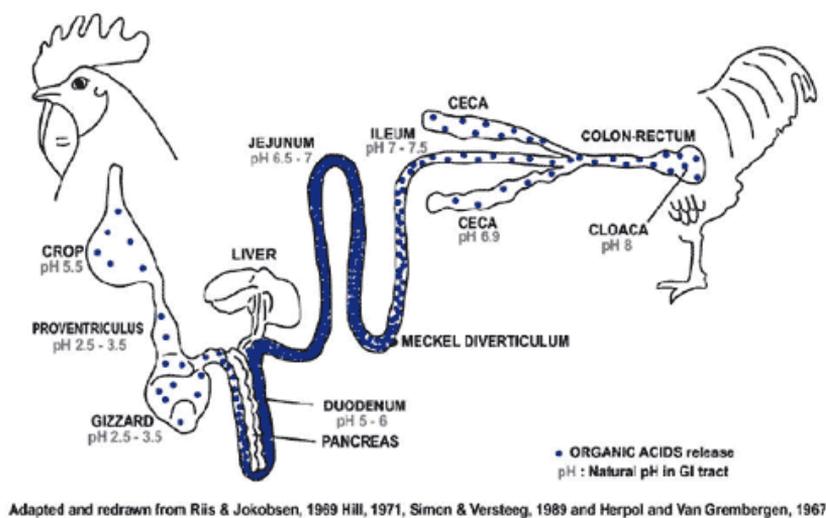
En el tracto gastrointestinal de las aves encontramos diferentes pH, según la parte del aparato digestivo de que se trate.

En el buche el pH se sitúa en torno a 5'5, en la molleja entre 2'5 y 3'5 y en los distintos tramos del intestino el pH va aumentando, hasta llegar a la cloaca, donde se alcanza pH 8.

Debido al pH que posee el buche, este es el primer punto de actuación, a nivel digestivo, de que disponen las aves para hacer frente a la contaminación introducida en el tracto gastrointestinal por medio del ambiente o de la alimentación.

Por ello, con la acidificación del agua ayudamos, por ejemplo, a que el pH natural del buche se mantenga en sus valores óptimos.

Figura 12: pH en las diferentes partes del sistema digestivo de las aves.



Fuente: Gauthier (n.d.)

El buche es fuente de contaminación por *Salmonella* durante el procesado de las canales en matadero. Se ha evaluado el efecto de la acidificación del agua de bebida en la reducción de *Salmonella Enteritidis* en el buche y se ha determinado que este tratamiento reduce los microorganismos recuperados (Avila et al., 2003).

Por otro lado, se reduce el pH a nivel intestinal. Esto genera un ambiente inadecuado para el desarrollo de microorganismos patógenos, como *Salmonella* (Cabrera, 2014).

La acción sobre el pH intestinal tiene consecuencias en la cantidad de colonias de este microorganismo que el animal excreta. Se reduce la expulsión, disminuyendo, por tanto, la contaminación dentro de las granjas y reduciendo la posibilidad de contaminación de animales no infectados.

También se ha constatado que el agua ingerida en el periodo de ayuno, si está acidificada, ayuda a limpiar de bacterias patógenas el tracto digestivo del animal, lo cual tiene consecuencias posteriores en el faenado de la canal, ya que se reduce el riesgo de contagio en uno de los focos de contaminación principales, el eviscerado.

El efecto del rendimiento de los pavos al ingerir agua de bebida acidificada también se ha estudiado, comprobándose que es similar al de aquellos que ingieren agua control con pH 8 (Cornelison et al., 2005).

Además, la acidificación del agua de bebida tiene otras ventajas.

El producto al que se recurre mayormente para potabilizar el agua es el hipoclorito sódico. Esto es debido a que su espectro de acción es adecuado para la flora a controlar en el agua y su disponibilidad es elevada, a la vez que el coste es bajo.

El hipoclorito de sodio, cuando se añade al agua, reacciona, generando ácido hipocloroso (HClO) e iones hipoclorito ( $\text{ClO}^-$ ). El ácido hipocloroso es el que determina la eficacia biocida.

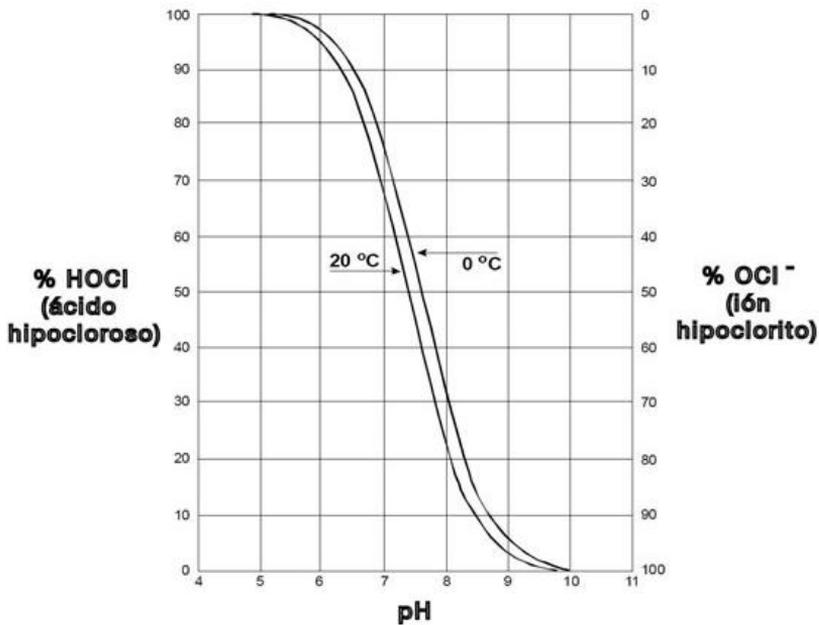
La ionización de la forma activa varía en función del pH. Así, a pH 5 la ionización es menor y la eficacia del cloro es mayor. En cambio, a pH 10 disminuye la cantidad de ácido hipocloroso formado y, por tanto, la acción desinfectante del hipoclorito sódico.

La adición de ácidos al agua, debido al descenso de pH que provoca, mejora la eficacia del cloro cuando se utiliza en combinación con éste.

Por ello, hoy en día se prefiere el uso de estos productos, combinados con cloro o empleados de forma independiente. Tienen también un coste

asumible por el ganadero y, además, generan una serie de ventajas mayores en cuanto a calidad del agua.

Figura 13: Formación de ácido hipocloroso e ion hipoclorito según pH del agua.



Fuente: Panachlor (2014)

#### 5.4 Higiene del pienso: CONTROL DE PIENSOS EMPLEADOS PARA CRÍA Y ENGORDE

El control de los piensos que se emplean para la alimentación de animales que se destinan para consumo humano es imprescindible.

Por medio de la alimentación se pueden transmitir a los animales una amplia variedad de microorganismos (Maciorowski et al., 2007). Estos pueden generar alteraciones en su estado de salud e incluso dar lugar a enfermedades transmisibles al consumidor (Ricke, 2005).

Los microorganismos pueden afectar negativamente a la calidad del pienso de diferentes formas. Además de ser algunos de ellos patógenos para animales y humanos, pueden causar la reducción de materia seca y nutrientes, originar olores desagradables, provocar el apelmazamiento del pienso y/o producir toxinas (Maciorowski et al., 2007)

El pienso se convierte, por tanto, en una pieza clave en la cría y engorde de animales destinados a la producción de carne, tanto económicamente como sanitariamente.

Por ello, se ha regulado mediante el Reglamento Europeo 1831/2003 la obligatoriedad que tienen los productores de piensos de asegurar que producción, transformación y distribución se realizan conforme a la legislación y en base a buenas prácticas, garantizando la higiene de los piensos obtenidos.

La higiene en los piensos se entiende como el conjunto de medidas aplicadas para controlar los posibles peligros, y que garantizan que el pienso es apto para el consumo animal (Anónimo, 2005a).



Imagen 9: Comederos de una granja.

Los proveedores de piensos, a fin de controlar los peligros, deben establecer un sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos

(APPCC). Además, deben instaurar aquellos controles y análisis que sean necesarios (MAGRAMA, 2005).

El riesgo de contaminación del pienso depende de las materias primas que se empleen y del proceso de fabricación, así como de la higiene de los sistemas de almacenamiento y transporte.

Uno de los principales peligros que debe controlarse es la contaminación con *Salmonella* spp. Este es, según la EFSA, el principal peligro de tipo biológico que puede ser transmitido por medio de la alimentación animal.

Las medidas para el control de *Salmonella* spp. en piensos se basan en (MAGRAMA, 2016):

- Control de materias primas.
- Mantenimiento, limpieza y desinfección de equipos.
- Mantenimiento y LD de medios de transporte.
- Mantenimiento y LD de sistemas de almacenamiento.
- Control de la contaminación ambiental y del contacto de animales silvestres.
- Utilización de tratamiento térmico en el proceso de producción del pienso o adición de aditivos autorizados específicos.

El control de la contaminación de los piensos por *Salmonella* spp. durante el proceso de producción se basa en 3 principios (Jones, 2011):

- Evitar el acceso de este microorganismo a las instalaciones.
- Impedir su crecimiento y multiplicación en las instalaciones.
- Actuar para destruir al microorganismo.

La entrada en las instalaciones de microorganismos, en general, y de *Salmonella* en particular, se puede evitar mediante el control de las

materias primas utilizadas para la fabricación de los piensos y mediante aplicación de medidas de bioseguridad (MAPA, 2005), que impidan el acceso por medio de sistemas de transporte, personal, útiles de trabajo, insectos, roedores y aves silvestres.

Con respecto al control de materias primas, se debe tener en cuenta a la hora de establecer el Plan de Muestreo y Análisis el volumen consumido de cada una de ellas, a fin de que los resultados obtenidos en el control sean representativos de la mercancía empleada. Además, se deberá estudiar el riesgo de contaminación por medio de cada materia prima en particular, aumentando el control de aquellas que con mayor probabilidad puedan ser fuente de contaminación microbiana, es decir, que su utilización implique mayor riesgo.

Otro aspecto importante que debe considerarse es el control del polvo en las instalaciones. En un estudio realizado en 1968 ya se detectó que ésta es una de las fuentes de contaminación por *Salmonella* en las fábricas de piensos (Nape, 1968).

Más tarde, en otro estudio, se analizaron 189 muestras de polvo del entorno de fabricación y 629 muestras de pienso, obteniéndose como resultado que la contaminación por *Salmonella* y enterobacterias era mayor en las muestras de polvo que en el pienso (Jones, 2004).

Las actuaciones que pueden llevarse a cabo para destruir microorganismos en el pienso pueden ser muy diversas, pudiendo considerarse la aplicación de tratamientos térmicos, químicos o una combinación de ambos tipos de tratamientos.

El tratamiento térmico, habitualmente durante el acondicionamiento, la granulación o la extrusión, es una forma eficaz de reducir los niveles de patógenos y toxinas en el pienso (Maciorowski et al., 2007). La esterilización se logra aplicando combinaciones diferentes de temperatura, humedad, presión y tiempo, según el proceso tecnológico al que se recurra.

Con respecto al tratamiento químico, los ácidos orgánicos pueden ser utilizados como complemento a los tratamientos anteriormente mencionados.

La adición de ácidos orgánicos, como fórmico, acético, sórbico y propiónico, a los piensos de pavos, puede reducir la carga de *Salmonella* Enteritidis, lo cual reduce el riesgo de contaminación durante el período de cría. Sin embargo, los niveles de inclusión de ácidos orgánicos en las dietas de inicio deben ser bajos, ya que pueden influir negativamente en el rendimiento de crecimiento de los pavos comerciales (Milbradt et al., 2017).

La reducción de microorganismos en el pienso con tratamiento térmico depende de la temperatura que se aplique, del tiempo de tratamiento y de la humedad del pienso (Stott et al., 1975; Maciorowski et al., 2004).

Con respecto a los tratamientos mecánicos, el granulado es uno de estos tipos de procesos, mediante el cual se aglomeran las partículas de las distintas materias primas para obtener el pienso en forma de gránulos o pellets.



Imagen 10: Pienso granulado.

El proceso de granulación del pienso se compone de 3 etapas fundamentales: acondicionamiento hidrotérmico, compresión-extrusión y enfriado-secado.

El acondicionamiento se realiza con inyección de vapor a la mezcla que se quiere granular, alcanzándose temperaturas letales para la mayor parte de los microorganismos.

La compresión-extrusión se consigue con granuladoras, que son las que dan forma al producto, mediante rodillos de compresión.

Por último, el enfriamiento se lleva a cabo mediante la utilización de aire, que actúa reduciendo la humedad y la temperatura del grano obtenido.

Los microorganismos presentes en las materias primas, como *Salmonella*, son en su mayoría termosensibles. La combinación de temperatura y presión aplicada durante el proceso de granulado, así como el tiempo en el que se aplican, favorecen que el pienso obtenido sea prácticamente estéril.

Con el acondicionamiento con vapor aumenta la temperatura y también la humedad de la mezcla tratada, lo que provoca la activación de inhibidores químicos (Tabib, 1984).

Por otro lado, durante la extrusión para el granulado también se ha determinado una reducción en los recuentos de enterobacterias, lo que se debe al calor que se genera durante este proceso en la matriz tratada (Stott et al., 1975).

Con respecto al enfriamiento, en un estudio realizado en fábricas de piensos de Dinamarca, se observó que el crecimiento microbiano en piensos se relacionaba con la condensación de humedad, y que era en esta etapa del proceso donde dicha condensación se producía. Además, se concluyó que en las épocas del año de menor temperatura ambiental los porcentajes de contaminación eran mayores, debido a que la mayor diferencia térmica entre producto y ambiente facilitaba la condensación (Israelsen, 1996).

Una vez conseguida la higienización del pienso deben extremarse las precauciones para evitar que se contamine nuevamente.

Los silos donde se almacene hasta su expedición deben limpiarse, desinfectarse y desinsectarse con la frecuencia apropiada para evitar la contaminación.

También es importante la higiene en el transporte del pienso hasta las granjas. Los vehículos utilizados deben ser empleados, siempre que sea posible, únicamente para el transporte de este tipo de mercancía. Si se utilizan para transportar otras mercancías con riesgo de transmitir contaminación se deben limpiar y desinfectar (MAGRAMA, 2005).

## 5.5 Higiene en el transporte de animales: LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE CAJAS, JAULAS Y VEHÍCULOS EMPLEADOS PARA EL TRANSPORTE DE PAVOS POR CARRETERA.

La forma más común de transportar el ganado, así como el pienso para la alimentación de estos animales, es por carretera.

Los vehículos empleados para el transporte pueden ser transmisores de enfermedades si tras la descarga, previamente a ser cargados de nuevo, no se limpian y desinfectan adecuadamente.

LD de los vehículos empleados para el transporte de ganado por carretera, añaden, por tanto, medidas de bioseguridad al proceso productivo.

El transporte de un lote positivo a *Salmonella* contamina las cajas/jaulas empleados. Por ello, tras la descarga, cajas y jaulas deben limpiarse y desinfectarse. Así se evita la contaminación del siguiente lote transportado (Van Immerseel et al., 2009).

El empleo de jaulas contaminadas con *Salmonella* para el transporte de aves de lotes negativos a *Salmonella* puede causar una contaminación externa e incluso la colonización de estos animales (Rigby et al., 1982).

La Ley 8/2003 de Sanidad Animal indica en su artículo 49 que una vez que se realice la descarga de animales hay que proceder a limpiar, lavar y desinfectar los vehículos empleados (Jefatura del Estado, 2003).

Con el objetivo de garantizar que el resultado de estas operaciones es el adecuado, se han establecido los requisitos mínimos que deben cumplir

los centros dedicados a estas tareas, así como los diferentes equipos e instalaciones de los que estos centros disponen.

En primer lugar, los centros de LD deben contar con la autorización del órgano competente del ámbito territorial en que se ubican.

Por otro lado, el recinto donde se encuentre el centro debe estar cerrado al exterior y en la entrada se debe colocar un cartel que indique que se trata de un centro de limpieza y desinfección de vehículos para transporte de ganado por carretera y que se accede por esa vía.

Además, es requisito indispensable que el área del recinto esté asfaltada.

Si fuera posible, la entrada y la salida de los vehículos deben hacerse por vías diferentes. De este modo se evita que coincidan camiones sucios, con aquellos que ya han sido lavados y desinfectados. Si no dispone de accesos diferenciados, y entrada y salida se realizan por el mismo lugar, se debe colocar un dispositivo que desinfecte las ruedas y los bajos del vehículo. Para ello se emplea agua a presión con un producto plaguicida-biocida.

Dentro del propio recinto también deben estar separadas las operaciones sucias y limpias y el flujo debe establecerse de forma que el vehículo en su recorrido no retroceda hacia zonas sucias por las que ya haya pasado (Ministerio de la Presidencia, 2005).

También están reguladas las operaciones de limpieza y desinfección (Ministerio de la Presidencia, 2005).

- En primer lugar, se debe realizar una primera limpieza, que puede hacerse en seco, mediante barrido y raspado, o empleando agua a presión.

- A continuación, se realiza una segunda limpieza, con agua caliente a presión y detergente.
- Tras esto, se rocía el plaguicida-biocida elegido para la desinfección.
- Por último, se procede al precintado del vehículo.

Para controlar la eficacia de LD se puede realizar inspección visual del vehículo una vez concluyan dichas operaciones, lo cual dará idea de la calidad de estas según los restos visibles; pueden tomarse muestras con toallitas o hisopos estériles y realizar el posterior cultivo bacteriano para comprobar la eficacia de la desinfección; y se puede emplear el método de detección del Trifosfato de Adenosina (ATP), molécula que está presente en restos orgánicos y en bacterias (Llorente y Gil, 2006).

Cajas y jaulas empleadas para el movimiento de aves también deben cumplir una serie de requisitos. Estos son (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2003):

- Que eviten la pérdida de excrementos y plumas.
- Que faciliten la observación de los animales transportados.
- Que puedan limpiarse y desinfectarse. Estas operaciones tienen que realizarse antes de la carga y después de la descarga.

Además del certificado que acredita LD del vehículo, el transporte de animales debe realizarse contando con otros documentos, tales como la información de los animales transportados, la autorización del medio de transporte para este fin y un registro de los desplazamientos realizados (Arrebola et al., 2013).



Imagen 11: Carga de aves para su transporte.

El transporte no solo tiene que procurar el adecuado estado higiénico de los animales a su llegada a matadero, sino que debe además realizarse de tal modo que no afecte al bienestar ni aumente el estrés durante el trayecto, debido a que esto tiene repercusión directa sobre la calidad de la carne.

En primer lugar, la carga de las aves debe hacerse de forma calmada, con movimientos suaves y, a ser posible, con poca luz, ya que los animales se dejan recoger más fácilmente. De esta forma se minimizan los efectos de un proceso estresante de por sí para el animal.

Por otro lado, los vehículos y sistemas de transporte que se empleen tienen que ser concebidos de tal forma que reduzcan el efecto de factores externos, como vibraciones, ruido y falta de ventilación, que afectan al bienestar del animal.

Además, el viaje no debe ser prolongado, para evitar la deshidratación, y la conducción tiene que ser adecuada, sin realizar movimientos bruscos.

Todos estos factores estresantes afectan al estado fisiológico en el que llegan los animales al destino.

Algunas alteraciones fisiológicas pueden servir como indicadores del nivel de estrés, si se comparan con los valores basales de referencia. Entre las alteraciones fisiológicas más comunes que se producen durante el transporte de los animales y que pueden medirse se encuentran: incremento de la frecuencia cardiaca y respiratoria, aumento de los niveles de cortisol en sangre (Bhandare and Sheard, 2010), aumento de ácidos grasos libres y glicerol en sangre y cambio en los niveles de Proteína Creatina Kinasa y Lactato Deshidrogenasa (Romero et al., 2011).

Por todo esto, el tiempo de espera en el matadero, una vez concluido el trayecto, y antes del sacrificio del animal, así como las condiciones ambientales durante el reposo, son importantes para que se establezca el organismo del animal y la carne obtenida no sufra alteraciones que afecten a la calidad del producto.



# OBJETIVOS



## 6. OBJETIVOS DEL ESTUDIO REALIZADO

### 6.1 Objetivo general

El objetivo general del estudio realizado es conseguir la erradicación o, al menos, la disminución de *Salmonella spp.* en la fase ganadera, antes de la llegada de los animales al matadero para su sacrificio.

Para alcanzar este objetivo, el cual se persigue tanto en fase de recría como en fase de cebo, se valoran medidas de control aplicadas en las etapas previas al sacrificio. Con dichas medidas, tomadas en granjas de la empresa productora donde se realiza el estudio en el periodo 2014-2016, se pretende que disminuya la prevalencia de *Salmonella spp.* en la producción primaria.

Reduciendo el número de manadas positivas para *Salmonella*, los animales positivos dentro de un lote y/o los niveles de colonización en el animal, se puede reducir la presión de la infección por *Salmonella* en el medio ambiente y en las aves (Van Immerseel et al., 2009).

### 6.2 Objetivos específicos

Para la consecución del objetivo general en el estudio se establecen los siguientes objetivos específicos:

- Validar aquellas medidas que permiten obtener una reducción del número de manadas positivas para *Salmonella spp.* en la fase de recría.

- Determinar cuáles son las medidas cuya aplicación deriva en una reducción del número de manadas positivas para *Salmonella spp.* en la fase de cebo.
- Comprobar que los piensos que se obtienen en las fábricas de pienso son seguros microbiológicamente y que no alteran la microbiología del animal.

**MATERIAL**

**Y**

**MÉTODO**



## 7. MATERIAL Y MÉTODO

### 7.1 Aplicación y toma de muestra

#### 7.1.1 Limpieza, desinfección y desinsectación de naves

La desinfección se aplica de dos formas diferentes, según la etapa de cría del pavo que se trate. En las granjas de recría la desinfección la realiza una empresa externa empleando un sistema de termonebulización. En las granjas de cebo, en cambio, la desinfección la realiza el propio granjero, aplicando el desinfectante mediante pulverización desde una cuba que contiene una dilución de este.

En la desinfección con termonebulización se emplea un desinfectante que contiene didecil dimetil cloruro de amonio (7'8%), cloruro de benzalconio (17'1%), glutaraldehído (10'7%) e isopropanol (14'6%) (VIROCID®, CID LINES NV/SA, Bélgica). La dosis a la que se aplica es del 1% y se emplea un equipo de nebulización que utiliza la técnica de Ultra Bajo Volumen (UBV).

En la desinfección por pulverización se emplean diferentes desinfectantes, con rotación de estos, a fin de evitar el desarrollo de resistencia de los microorganismos. Los desinfectantes empleados, diluidos al 0'5-1%, y el orden en la rotación han sido:

1. Desinfectante compuesto por glutaraldehído (14%), alquilbencil dimetil amonio cloruro (10%), propan-2-ol y metanol (NEODES®, Laboratorios Zotal, España).

2. Desinfectante compuesto por peróxido de hidrógeno (24'3%), peracético (2'7%) y ácido acético (9%) (OXYBAC®, Prevención Bio-Ambiental, España).
3. Desinfectante compuesto por didecil dimetil cloruro de amonio (10%) y glutaraldehído (15%) (SANIVIR®, Bioplagen, España).

Para la desinfección de silos se aplica un desinfectante formulado en spray, compuesto por glutaraldehído (0'15%) y cloruro de dimetilbencilamonio (0'15%) (GERMOSAN NOR FORTE®, Laboratorios Bilper, España).

Para la desinsectación se emplea un insecticida cuyo principio activo es cipermetrina (15%) (DESINSAN C15®, Laboratorios Bilper, España).

Una vez realizada la LD de las granjas, y con el objetivo de comprobar la eficacia de ambos métodos de desinfección, se han tomado 10 muestras, de varios puntos de las naves, tal y como se indicaba en el Programa Nacional para la Vigilancia y Control de determinados serotipos de *Salmonella* en pavos de 2016 (MAGRAMA, 2016).

El muestreo se realizó antes de aplicar el protocolo de limpieza y desinfección, tomando 10 muestras, y tras la aplicación de dicho protocolo, recogiendo 10 muestras nuevamente. Se repitió la toma de muestras 3 veces en granjas de recría y 3 veces en granjas de cebo. En cebo se realizó un muestreo por cada uno de los desinfectantes empleados, con el objetivo de determinar si un desinfectante era más efectivo que otro.

Las 10 muestras, recogidas antes y después, se han tomado de forma aleatoria, incluyendo todo tipo de superficies, tales como paredes, sistema de ventilación, estructuras, comederos y bebederos, y prestando especial

atención a aquellos puntos que puedan resultar críticos dentro de cada tipo de nave. El conjunto de las 10 muestras se ha agrupado de forma que constituyen una única muestra, que es la que se ha sometido al análisis.

### 7.1.2 Tratamiento de la cama

En el estudio realizado la cama de las diferentes granjas, tanto en la etapa de recría como en la etapa de cebo, se trata con cal apagada ( $\text{Ca(OH)}_2$ ), lo que produce aumento del pH hasta 8'5.

En las granjas se cuenta con solera de hormigón de 10 cm de espesor, realizada con hormigón HA-25.

La cal se extiende sobre el suelo de la nave, con abonadora o manualmente. A continuación, sobre ella, se coloca la cama.



Imagen 12: Reparto de cal con abonadora.

Durante el tiempo en que permanece la camada en la nave, la yacija se mueve para airearla y evitar que se humedezca demasiado, lo cual podría dar lugar a apelmazamiento de la viruta.

El volteado de la cama se realiza de forma mecánica con removedores de cama en granjas de grandes dimensiones, o de forma manual con horcas, en granjas pequeñas.

El objetivo es sacar a la superficie la cama limpia que ha quedado debajo de las heces depositadas.



Imagen 13: Reparto manual de cal.

Tras la salida de los animales de la granja, la cama se retira y para el siguiente lote de producción la yacija que se coloca es nueva.

El objetivo del estudio llevado a cabo es determinar si existe reducción de la incidencia de *Salmonella* en granjas de recría y cebo al realizar el tratamiento de la cama con cal, es decir, si la mejora de las condiciones microbiológicas de la cama a causa de su mejor manejo influye en la mejora de la contaminación de los lotes producidos.

Para ello, se toman muestras en granjas, mediante calzas (STERISOX®, Sodibox, Francia), tanto en las condiciones previas, como tras el tratamiento.

El muestreo se realizó tal y como indicaba el Programa Nacional para la Vigilancia y Control de determinados serotipos de *Salmonella* en pavos vigente en el momento en que se recogieron las muestras (2016).

Se colocan calzas sobre las botas del muestreador, recorriendo éste los diferentes sectores de la nave. Las calzas deben humedecerse previamente con una disolución con 0'8% de cloruro de sodio y 0'1% de peptona. Una vez tomadas las muestras, las calzas se retiran de las botas, con precaución de que no se desprenda el material adherido (MAGRAMA, 2016).

El recorrido a realizar debe comprender todos los sectores de la instalación, con objeto de que la muestra tomada sea representativa.

En el caso de las granjas de recría las muestras se recogen en la misma semana en que los animales son trasladados hacia las granjas de cebo, antes de que esto se produzca.

En el caso de las granjas de cebo la toma de muestras se realiza tres semanas antes de que se complete la fase de engorde y los animales se lleven a matadero.

El muestreo se repitió entre 7 y 8 veces en cada granja de recría y entre 3 y 4 veces en cada granja de cebo.

### **7.1.3 Acidificación del agua de bebida**

Se emplea una mezcla de ácidos orgánicos e inorgánicos para el tratamiento del agua de bebida durante la crianza de los pavos. Se pretende conseguir una bajada de pH en el agua, de forma que oscile entre 5 y 5'5, y se cree un ambiente donde no sea posible el desarrollo y la proliferación de *Salmonella*.

La mezcla de ácidos se suministra por medio de un acidificante líquido que contiene ácido fórmico al 50%, ácido ortofosfórico al 10% y ácido propiónico al 5% (ACIDBAC®, Dex Ibérica, España).

La dosificación se hace a razón de 0'02-0'07%, de forma que se obtiene el pH deseado en el agua suministrada. El control de pH se realiza con medidor de pH portátil CRISON pH25.

Se toman muestras tanto de granjas de recría como de granjas de cebo y tanto el procedimiento para realizar el muestreo como el momento en que este tiene lugar son iguales a los seguidos para verificar la eficacia del tratamiento de la cama.

#### 7.1.4 Pienso

En el estudio se cuenta con fábricas en las que se producen diferentes piensos para la cría y engorde de pavos.

El proceso de fabricación, los puntos de control para peligros biológicos que existe en cada fase, así como la medida correctora recogida para ellos en el APPCC de las Fábricas de Piensos se detallan a continuación:

- Compra y recepción de materias primas.

El responsable de recepción realiza un primer control visual-organoléptico de las materias primas y premezclas medicamentosas recepcionadas.

Estas últimas son medicamentos veterinarios, autorizados para ser usados en la fabricación de piensos medicamentosos. Estos, por su parte, son piensos que cuentan con propiedades preventivas o curativas.

Durante la recepción se recoge una muestra para el laboratorio y se cumplimenta el registro de entrada para cada tipo de materia prima

y premezcla. En este registro se incluye el tipo de materia prima, el proveedor, la fecha en que se ha realizado la entrega, el transportista y vehículo, la cantidad recepcionada, el número de lote, la fecha de caducidad cuando exista y el lugar de almacenaje. Un peligro contemplado en esta fase es la presencia de microorganismos patógenos, hongos y/o micotoxinas por exceso de humedad en la materia prima. Para controlarlo se comprueba, a la entrada de la mercancía, humedad y peso específico. En caso de que la materia prima no sea apta se rechaza. Además, como medida preventiva para evitar la proliferación de patógenos en materias primas se pulveriza a la entrada una mezcla de ácidos orgánicos (ácido propiónico) con cinamaldehído (aceite esencial de canela) (BIOBAC®, Dex Ibérica, España), cuyo efecto fungicida y bactericida protege del deterioro causado por estos microorganismos.

Tabla 11: Normas de rechazo de materias primas según humedad en la descarga.

MATERIA PRIMA	HUMEDAD (%)
CEBADA	>13
TRIGO NACIONAL	>14
TRIGO IMPORTACIÓN	>14'5
HARINA DE SOJA	>12'5

- Almacenamiento

La materia prima recibida, una vez superado el control en la recepción, es aceptada y almacenada en los lugares habilitados para tal fin (silos). En los silos de almacenamiento el periodo de

estancia es corto, inferior a 72 horas, y se sigue el criterio FIFO (First In, First Out), es decir, lo primero que entra es lo primero que se consume.

Se actúa de igual manera con los aditivos y premezclas recepcionadas, asignando lugares de almacenamiento específicos para cada producto dentro de la instalación, los cuales se encontrarán debidamente identificados.

El almacenamiento durante corto periodo de tiempo minimiza el riesgo de contaminación por desarrollo de microorganismos y micotoxinas, los cuales suponen el peligro biológico principal de esta etapa.

Los silos de almacenamiento y los circuitos son de materiales adecuados para su función, están independizados y se limpian con periodicidad semestral.

- Molienda

Es la primera etapa de procesamiento a que se someten las materias primas en la elaboración del pienso. Con ella lo que se pretende es conseguir el tamaño de partícula idóneo, que permita una buena granulación y digestibilidad del pienso obtenido.

Los molinos son verticales de martillo. Se limpian de forma diaria.

- Pesada y Dosificación

La dosificación se realiza desde celdas, a través de elementos de extracción, como raseras oscilantes o roscas sinfín, que descargan a la báscula de dosificación.

Las celdas de dosificación son tolvas mecánicas que se encuentran perfectamente identificadas para cada tipo de producto. Se apoyan sobre células de carga electrónicas, ya que la fiabilidad de las

pesadas debe ser alta para evitar desviaciones entre la fórmula proyectada y la fabricada.

Los equipos de pesada y dosificación se limpian con frecuencia semestral.

- Mezclado

Es el proceso físico que garantiza la homogeneidad del conjunto de materias primas, aditivos y premezclas que integran la ración.

Los ingredientes se mezclan en una mezcladora de palas durante 4 minutos aproximadamente.

La incorporación de los ingredientes líquidos a la mezcladora se hace de forma que caen sobre los ingredientes sólidos, en lugar de sobre la pared interna de la mezcladora.

Para comprobar que durante esta etapa no se producen contaminaciones cruzadas de diferentes medicamentos y que la distribución de estos en el pienso es homogénea se realizan, con una periodicidad anual, análisis en laboratorio para tal fin.

Los equipos de mezclado se limpian cada día.

- Granulación y Enfriamiento

La granulación es un proceso mecánico por el cual el pienso en forma de harina termina con una aglomeración de las partículas que quedan en forma de gránulos o pellets. En este proceso se distinguen varias etapas, como son el acondicionamiento hidrotérmico, la compresión-extrusión y el enfriado-secado.

El acondicionamiento hidrotérmico se hace inyectando vapor en un homogeneizador o acondicionador directamente sobre la mezcla molida, alcanzando el pienso una temperatura de 75-80°C.

La compresión-extrusión se realiza mediante granuladoras, en las cuales existe una matriz vertical con rodillos de compresión de harinas, que es la responsable de darle forma al producto final.

En esta etapa se controlan las condiciones de temperatura a que se somete cada tipo de lote de fabricación, de forma continua, a fin de evitar que sobrevivan patógenos por empleo de temperatura insuficiente en el tratamiento.

Por otro lado, las condiciones de fabricación tendrán que ser compatibles con la estabilidad de los aditivos y de las premezclas medicamentosas incorporadas, y en ningún momento la temperatura de la granuladora será inferior a 65°C.

El enfriado-secado se lleva a cabo en equipos enfriadores, cuya misión es reducir la humedad y la temperatura del gránulo, mediante la utilización de aire. Con esto se pretende mejorar la conservación. Los gránulos entran en el enfriador con una humedad de 14-15% y con una temperatura de 60-70°C. Sin embargo, a la salida del enfriador la humedad será de 11-12% y la temperatura de 20-30°C.

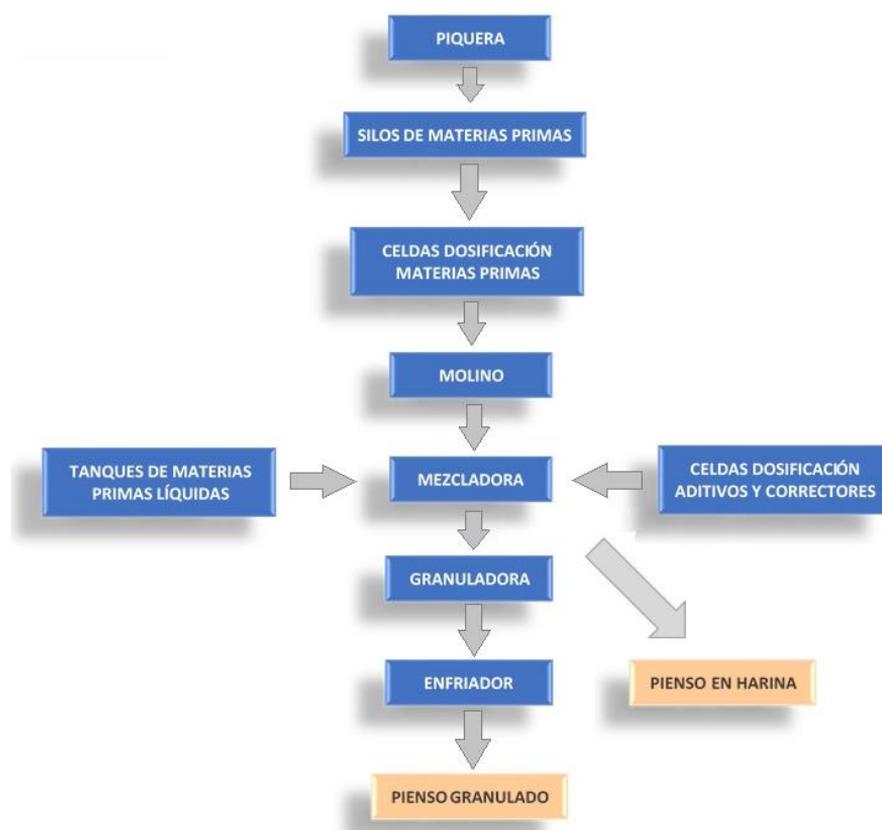
En esta última etapa puede existir desarrollo de microorganismos por inadecuada temperatura de enfriamiento. Para prevenirlo se controla la temperatura en continuo del proceso, al igual que durante la granulación.

- Almacenamiento y Expedición

El pienso se almacena y expide a granel, y durante el almacenamiento también se sigue el criterio FIFO y el tiempo de espera es corto, no superando las 72 horas, impidiendo así el desarrollo de microorganismos.

Respecto a la expedición de los piensos, los vehículos destinados a la entrega de los mismos deben estar convenientemente limpios para evitar las contaminaciones que se puedan producir, especialmente de origen microbiológico. Se registrarán las diferentes salidas y los medios de transporte utilizados en las mismas. En el caso de los piensos medicamentosos también se registrarán las recetas veterinarias que amparan dichos piensos.

Figura 14: Diagrama de flujo en la producción de pienso.



A partir de este momento, es decir, desde que se obtiene el pienso, lo más importante es controlar la bioseguridad de las instalaciones para evitar que el producto se contagie por fuentes externas de contaminación. De este modo, las superficies de las instalaciones de estas fábricas de piensos se han diseñado de forma que se evita que acumulen suciedad, a la vez que facilitan su limpieza y desinfección. Por otro lado, las diferentes áreas de trabajo son independientes, estando a su vez separadas de los vestuarios y aseos del personal.

Tabla 12: Puntos de control para peligros biológicos considerados en la producción de pienso y medidas aplicadas.

FASE DE PRODUCCIÓN	MEDIDAS HIGIÉNICAS APLICADAS
Compra y recepción de materias primas	Control organoléptico Control de humedad Control de peso específico Mezcla de ácidos a la entrada
Almacenamiento de materias primas	Método FIFO Limpieza de silos
Molienda	Limpieza del molino
Pesada y dosificación	Limpieza de equipos
Mezclado	Limpieza de equipos Control de contaminantes (análisis de laboratorio)
Granulación y enfriamiento	Control de temperatura del acondicionamiento hidrotérmico Control de temperatura de compresión-extrusión Control de temperatura de enfriado-secado Control de humedad de enfriado-secado
Almacenamiento y expedición	Control del tiempo de almacenamiento Limpieza de vehículos
Bioseguridad de instalaciones	Diseño de instalaciones Limpieza y desinfección

Para este estudio se ha realizado el control de *Salmonella* en los piensos producidos en cada una de las fábricas de pienso. Son objeto de análisis tanto muestras de pienso granulado como pienso en migaja. Este último no se somete al proceso de granulado, por lo que el riesgo de contaminación es mayor, ya que no existe tratamiento térmico ni mecánico que garantice la esterilidad del pienso producido.

Durante un año, se tomó, con frecuencia semanal, una muestra de pienso granulado de cada una de las tres fábricas que se estudian, así como una muestra de pienso en migaja. El punto de muestreo se establece en el silo de almacenamiento antes de la expedición.

De esta forma, se realizaron 150 análisis de pienso granulado y 144 análisis de migaja.

#### **7.1.5 Limpieza y desinfección de sistemas de transporte.**

La limpieza y desinfección de las cajas que transportan los animales entre las distintas etapas del proceso de cría y engorde, es decir, entre incubadora y recría y entre esta etapa y la de cebo, se realizan en un lavadero destinado a este fin.

Dicho lavadero consta de 4 zonas, bien diferenciadas. Cuenta con almacén de cajas sucias, lavadero de cajas, almacén de cajas limpias y lavadero de camiones.

En el lavadero de cajas la limpieza y desinfección de estas se realiza en lavadoras automáticas, que emplean agua a 50°C y dosifican el producto químico en la concentración preestablecida.

El producto empleado es un desengrasante sin espuma, formulado a partir de tensioactivos y agentes secuestrantes y se emplean dosis del 4%.

Por otro lado, tras la descarga de los animales en el muelle de vivos del matadero, se realiza la LD de las jaulas vacías en una lavadora ubicada en dicho muelle para tal fin.

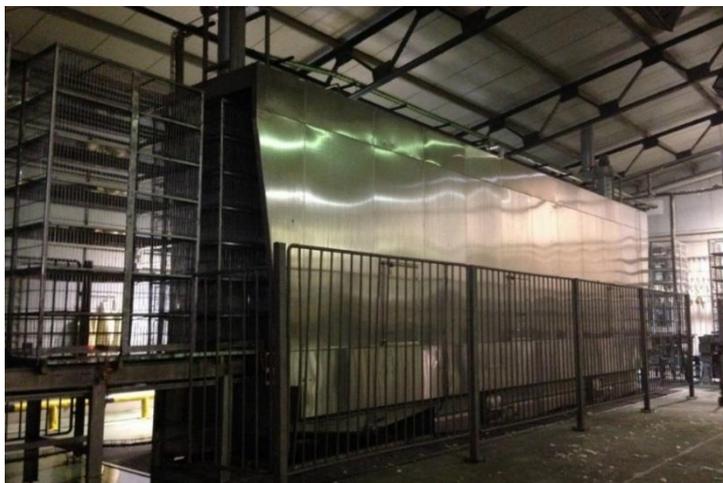


Imagen 14: Lavadora de jaulas en el muelle de descarga de animales en el matadero.

Por último, en las instalaciones del matadero se ubica el lavadero en el cual se limpian y desinfectan los vehículos tras la descarga. El flujo es el adecuado para que no existan contaminaciones cruzadas debido al cruce de camiones limpios y sucios.

Se han tomado muestras tanto de cajas en el lavadero de cajas, como de jaulas en el muelle de vivos.

En el caso de cajas y jaulas se ha tomado una muestra por caja/jaula, recogiendo 10 muestras diarias en 10 días diferentes de muestreo.

Los muestreos se realizaron con frecuencia mensual, en los meses entre julio de 2015 y abril de 2016 en el caso de cajas que transportan animales desde incubadora hasta recría; entre julio de 2015 y mayo de

2016, a excepción de abril de 2016, para las cajas que transportan animales de recría a cebo; y entre abril de 2015 y enero de 2016 para jaulas en las que se transportan animales de cebo a matadero.

La toma de muestra se realiza con toallitas estériles (WIPES, bioMérieux ref. CHI100N), empleando una toallita por caja/jaula.

## 7.2 Determinación de *Salmonella*: VIDAS®

El análisis de *Salmonella* se realiza empleando un sistema que utiliza técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) (VIDAS®, bioMérieux, Madrid, España).

Concretamente, se aplica el protocolo desarrollado para detección de este patógeno, VIDAS® UP SALMONELLA. Este es un ensayo cualitativo automatizado que permite detectar *Salmonella* en productos de alimentación humana y animal, en muestras de ambientes de producción y en muestras de producción primaria.

En ensayos ELFA la enzima (fosfatasa alcalina) descompone el sustrato (4-metil-umbeliferil fosfato) en un producto fluorescente (4-metil-umbeliferona) (Banada y Bhunia, 2008).



Imagen 15: Cartuchos y conos VIDAS®.

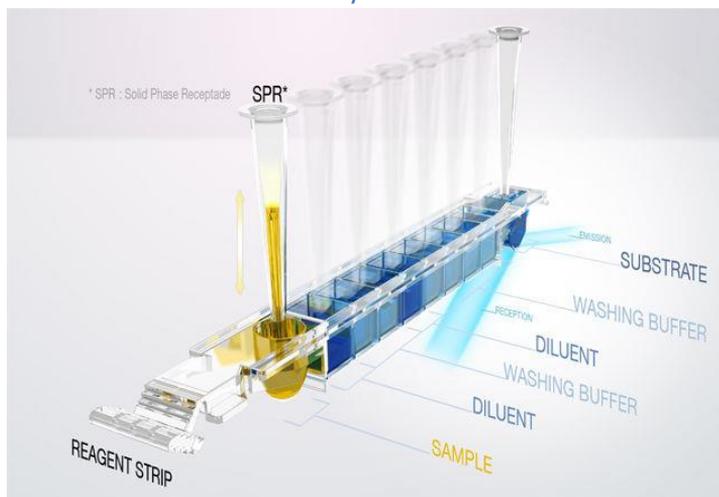
Para cada análisis con VIDAS® UP SALMONELLA se dispone de un cono, o recipiente de fase solida (SPR®, Solid Phase Receptacle) que actúa al mismo tiempo como fase sólida y como sistema de pipeteo, y de un cartucho que contiene, listos al empleo, los reactivos necesarios para el ensayo.

Una alícuota del caldo de enriquecimiento se dosifica en el cartucho y, de forma automática, el equipo realiza varias aspiraciones y expulsiones con el cono.

Este está cubierto en su interior por proteínas específicas para los receptores de *Salmonella*, de forma que las proteínas conjugadas con la enzima se unirán a dichos receptores en los ciclos de aspirado y expulsión.

Con la realización de diferentes lavados posteriores se elimina el conjugado no ligado a receptores de *Salmonella*.

Figura 15: Contenido de los diferentes pocillos del cartucho empleado en el ensayo VIDAS®



Fuente: bioMérieux

El último pocillo del cartucho contiene 4-metil-umbeliferil fosfato, el cual también es aspirado y expulsado del SPR®. La fosfatasa alcalina conjugada que ha sido retenida lo degrada generando 4-metil-umbeliferona.

Este es el producto fluorescente que emite señal a 450nm, la cual es detectada en el espectrofluorómetro del equipo VIDAS®.

La fluorescencia será proporcional a las cantidades de antígenos unidos a anticuerpos (Raugel, 2012).

En el Anexo I del Reglamento 2073/2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, se indica que el método analítico de referencia para *Salmonella* es EN/ISO 6579.

No obstante, pueden usarse métodos analíticos diferentes a los de referencia, los cuales se autorizarán si están validados respecto al de referencia (Anónimo, 2005b)

VIDAS® está validado según normas de referencia ISO y el protocolo de *Salmonella*, en concreto, está validado por AFNOR según ISO 16140 (UNE-EN ISO 16140. Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Protocolo de validación de métodos alternativos).

Para la preparación y análisis de las muestras el procedimiento seguido es el siguiente:

1. La muestra se coloca en una bolsa estéril con filtro (TEMPO bags, bioMérieux ref. 80015) y se adiciona agua de peptona tamponada (bioMérieux ref. AEB910305/2), empleando diluidor gravimétrico automatizado, hasta dilución 1:10.

2. Una vez añadida el agua de peptona, se añade suplemento de enriquecimiento selectivo para *Salmonella* (Salmonella SUPP, bioMérieux ref. 42650). La cantidad de suplemento se calcula sabiendo que por cada 25g de muestra se deben añadir 2ml de suplemento.
3. A continuación, se introduce la bolsa en un homogeneizador para que la muestra se mezcle correctamente con el medio suplementado.
4. Se incuban las bolsas durante 18-24 horas, a  $41'5\pm 1^{\circ}\text{C}$ .
5. Concluida esta fase de incubación se hace un pase de 1ml de muestra a 9ml de caldo SX2 (bioMérieux ref. 42121). Este es un caldo para enriquecimiento selectivo de *Salmonella*, que se emplea para muestras de ambientes de producción primaria.
6. Los tubos de caldo SX2 con 1ml de muestra se incuban nuevamente, durante 6-24 horas, a  $41'5\pm 1^{\circ}\text{C}$ .
7. A continuación, tras esta fase de incubación, se adicionan 500 $\mu\text{l}$  de muestra en un cartucho de detección de *Salmonella* (VIDAS<sup>®</sup> UP Salmonella SPT, bioMérieux ref. 30707) y se calienta este, durante  $5\pm 1$  minutos, en VIDAS<sup>®</sup> Heat&Go (bioMérieux, Madrid, España). Este es un sistema calefactor (calor seco), diseñado para calentar de forma fácil los cartuchos de detección de VIDAS<sup>®</sup>.
8. Una vez termostatizados los cartuchos, se introducen en el equipo inmunoanalizador, en el cual se realizan automáticamente todos los pasos del análisis una vez seleccionada la solución VIDAS<sup>®</sup> SPT. En 48 minutos se tiene disponible el resultado.

9. Para los resultados positivos (presencia de *Salmonella*) se debe realizar confirmación con procedimientos que empleen medios de cultivo.

Hasta que se complete el procedimiento de confirmación, un inmunoensayo positivo debe considerarse sólo un resultado presuntivo. (Dwivedi et al., 2014)

La confirmación se lleva a cabo realizando siembra en medio cromogénico selectivo de *Salmonella* (AGAR ASAP™, bioMérieux ref. AEB520090) de una alícuota de la muestra. El agar se incuba a  $37\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante  $24\pm 3$  horas.

Las colonias características son de color rosa púrpura, debido a la degradación del sustrato por la enzima C8-esterasa, característica del género *Salmonella*.

Las colonias características, a su vez, se confirman, tomando 5 de ellas, mediante test de aglutinación con látex específico para *Salmonella* (*Salmonella* spp. látex kit, bioMérieux ref. MGNF42)

El procedimiento de análisis es el mismo para todas las muestras ensayadas, a excepción de los piensos. En este caso, por no tratarse de muestras de ambientes de producción primaria, en el paso 2 se añade 1ml de suplemento por cada 25g de muestra y se omiten los pasos 5 y 6 del procedimiento detallado anteriormente.

### 7.3 Análisis estadístico de resultados

Los cálculos estadísticos se realizaron con el Software SPSS 15.0 (IBM Company, USA).

La eficacia de las medidas propuestas se determinó mediante comparación del porcentaje de muestras positivas a *Salmonella* antes y después de la intervención, con la prueba no paramétrica de  $\chi^2$ , considerando un nivel de significación del 5% ( $P < 0.05$ ).

Para contrastar la eficacia de los cuatro desinfectantes se determinó, mediante el Test Exacto de Fisher ( $P < 0.05$ ), la similitud de las condiciones de ensayo mediante comparación de la frecuencia de *Salmonella* en las muestras tomadas antes de su aplicación y posteriormente se comparó la reducción observada tras la aplicación de cada desinfectante en el porcentaje de muestras positivas.

**RESULTADOS**

**Y**

**DISCUSIÓN**



## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1 Bioseguridad: LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE GRANJAS.

Los resultados que se han obtenido para cada uno de los muestreos, tanto en granjas de recría como en granjas de cebo se recogen en la tabla siguiente:

Tabla 13: Resultados para *Salmonella* tras Limpieza y Desinfección de Granjas de Recría y Granjas de Cebo.

GRANJAS DE RECRÍA – Desinfección por termonebulización				
	Toma de muestra	Nº de muestras	Positivas <i>Salmonella</i>	% Positivas <i>Salmonella</i>
<b>Muestreo 1</b> (VIROCID®)	Antes de LD	20	7	35%
	Después de LD	20	0	0%
<b>Muestreo 2</b> (VIROCID®)	Antes de LD	20	6	30%
	Después de LD	20	0	0%
<b>Muestreo 3</b> (VIROCID®)	Antes de LD	20	4	20%
	Después de LD	20	0	0%
GRANJAS DE CEBO – Desinfección por contacto				
	Toma de muestra	Nº de muestras	Positivas <i>Salmonella</i>	% Positivas <i>Salmonella</i>
<b>Muestreo 1</b> (NEODES®)	Antes de LD	9	4	44'44%
	Después de LD	9	0	0%
<b>Muestreo 2</b> (OXYBAC®)	Antes de LD	13	2	15'38%
	Después de LD	13	0	0%
<b>Muestreo 3</b> (SANIVIR®)	Antes de LD	8	3	37'50%
	Después de LD	8	0	0%

En todas las muestras tomadas tras aplicar limpieza y desinfección no se detecta *Salmonella*. Estos resultados son satisfactorios. Sin embargo, las diferencias entre porcentaje antes y después del tratamiento para desinfectantes empleados en el segundo y en el tercer muestreo en granjas

de cebo no pueden considerarse estadísticamente significativas ( $P=0'14$  y  $P=0'054$ , respectivamente). Esto se debe, probablemente, al bajo número de casos positivos previos al tratamiento.

Tabla 14: Resultados del  $\chi^2$  en la comparación antes-después de muestras positivas a *Salmonella* para cada ensayo realizado.

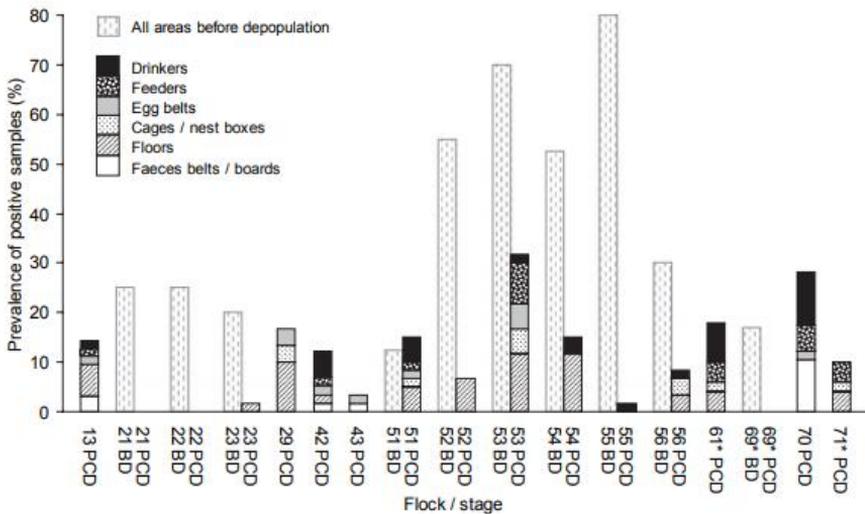
GRANJAS DE RECRÍA – Desinfección por termonebulización			
	Muestreo 1 (VIROCID®)	Muestreo 2 (VIROCID®)	Muestreo 3 (VIROCID®)
Nivel de significación (P)	0'0036	0'007	0'0035
GRANJAS DE CEBO – Desinfección por contacto			
	Muestreo 1 (NEODES®)	Muestreo 2 (OXYBAC®)	Muestreo 3 (SANIVIR®)
Nivel de significación (P)	0'023	0'14	0'054

Wales y colaboradores (2007) muestrearon 17 naves de gallinas ponedoras, de granjas de Reino Unido, tras limpieza y desinfección (PCD, post cleaning and disinfection). En 10 de estos 17 gallineros también se habían tomado muestras antes de la salida de los animales (BD, before depopulation).

Los resultados obtenidos (Figura 16) muestran reducción de *Salmonella* en 9 de estas 10 naves, no detectándose dicho microorganismo en 3 de ellas.

En 14 de 17 naves, a excepción de las identificadas como 13, 29 y 70, se aplicó el mismo desinfectante, en base aldehído. Sin embargo, la reducción de contaminación fue diferente entre naves.

Figura 16: Resultados de Limpieza y Desinfección en 17 gallineros.



Fuente: Wales et al. (2007)

Además, se observó en este estudio que en zonas como bebederos y comederos podía quedar contaminación residual tras LD. Esto es importante, ya que expone a las nuevas manadas a *Salmonella* desde estadios tempranos de la crianza.

No obstante, según Mueller-Doblies y colaboradores (2014), el número de muestras positivas para *Salmonella* que se detectan tras LD está relacionado con la probabilidad de transmisión de infección, pero, la ubicación de las muestras positivas parece ser menos importante.

Davies y Breslin (2003), también en un estudio sobre limpieza y desinfección en granjas de gallinas ponedoras, observaron que, en algunos casos, tras LD la contaminación de los gallineros aumentaba con respecto a los niveles de *Salmonella* de partida antes de estas tareas. Concretamente, observaron este aumento en la prevalencia de *Salmonella* en 2 de 12 naves

muestreadas. En dichas granjas se empleó como desinfectantes clorocresol y iodóforos, respectivamente.

Por otro lado, en dicho ensayo, solo se consiguió eliminación total de la contaminación por *Salmonella* en 1 de 12 granjas.

Las mayores reducciones de *Salmonella*, por encima del 60%, se consiguieron cuando se empleó formaldehído como desinfectante, o una combinación de este con glutaraldehído y compuestos de amonio cuaternario.

En otro estudio se comprobó que la calidad del agua empleada para diluir el desinfectante también es un factor que afecta a la eficacia de este (Davison et al, 1996).

Se testaron 5 desinfectantes contra *S. Enteritidis*:

- Amonio cuaternario al 2'5%.
- Cloro, hasta 400 ppm de cloro activo.
- Glutaraldehído al 12'8%.
- Desinfectante en base a fenol al 7'35%.
- Compuestos de amonio cuaternario combinados con formaldehído, con 3'08% y 2'28%, respectivamente.

A su vez, se empleó para hacer la dilución de ellos agua de pozo, agua corriente y agua de estanque, así como agua de grado laboratorio.

Por cada tipo de agua (pozo, corriente y estanque) se realizaron dos ensayos, con valores de pH, conductividad y dureza diferentes.

La cepa de *S. Enteritidis* que se usó en el ensayo se había aislado del bazo de una gallina infectada.

Según los resultados obtenidos por Davison y colaboradores (1996), el amonio cuaternario, la combinación de este con formaldehído y el desinfectante en base a fenol son los más eficaces contra *S. Enteritidis* cuando se emplea agua de pozo, agua corriente o de estanque.

En cambio, con el uso de cloro se obtienen peores resultados en agua de campo, a pesar de que sí son buenos los resultados con agua de grado laboratorio.

Por otro lado, para la misma fuente de agua, pH, conductividad y dureza parecen no afectar la capacidad del desinfectante.

Tabla 15: *S. Enteritidis* testada frente al uso de desinfectantes diluidos en agua de laboratorio y agua de campo.

Disinfectant	Trial	Number of tubes with positive growth					
		Well water trials		Stream water trials		Pond water trials	
		Lab	Well <sup>b</sup>	Lab	Stream <sup>c</sup>	Lab	Pond <sup>d</sup>
Phenol	1	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
	2	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Quarternary ammonium	1	0 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
	2	1 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Chlorine	1	1 <sup>a</sup>	7 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	6 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	10 <sup>b</sup>
	2	0 <sup>a</sup>	6 <sup>b</sup>	2 <sup>a</sup>	10 <sup>b</sup>	3 <sup>a</sup>	10 <sup>b</sup>
Glutaraldehyde	1	9 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	10 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>
	2	8 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	10 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	10 <sup>b</sup>	3 <sup>a</sup>
Combination	1	0 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
	2	1 <sup>a</sup>	7 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>n = 10. Values within a row and type of water trial followed by the same lower case letter do not differ ( $P > 0.05$ ).

<sup>b</sup>Trial 1: pH = 7.7, hardness = 380 mg, conductivity = 0.60 mS; Trial 2: pH = 6.2, hardness = 160 mg, conductivity = 0.42 mS.

<sup>c</sup>Trial 1: pH = 7.9, hardness = 140 mg, conductivity = 0.26 mS; Trial 2: pH = 8.0, hardness = 320 mg, conductivity = 0.62 mS.

<sup>d</sup>Trial 1: pH = 8.5, hardness = 300 mg, conductivity = 0.58 mS; Trial 2: pH = 7.6, hardness = 160 mg, conductivity = 0.40 mS.

Fuente: Davison et al. (1996)

Los compuestos de amonio cuaternario actúan sobre bacterias y virus debido a que alteran la permeabilidad de la membrana citoplasmática, lo que produce la muerte de la célula (Veluz et al., 2014).

Tras el contacto entre célula y desinfectante, este difunde a través de la pared celular, causando la disrupción de la membrana citoplasmática y liberando componentes del citoplasma, lo que provoca la precipitación del contenido celular y muerte de la célula (Moorman et al., 2005).

El efecto del amonio cuaternario se potencia con el isopropanol (Marques Ribeiro et al., 2015). Este destruye las formas vegetativas de las bacterias, es fungicida y viricida, aunque, por el contrario, no es eficaz contra las esporas bacterianas (European Comission, 2001).

El glutaraldehído, por su parte, bloquea la acción de enzimas y desnaturaliza proteínas (Carrique-Mas et al., 2009). Tiene un amplio espectro de acción y actúa de forma rápida, aun cuando existe presencia de materia orgánica (Cardoso et al., 2008).

Por último, los compuestos fenólicos en altas concentraciones rompen la pared celular, y en baja concentración inactivan las enzimas esenciales (Cardoso et al., 2008).

## 8.2 Mejora del manejo: ALCALINIZACIÓN DE LA CAMA

Los resultados obtenidos para *Salmonella* en los distintos muestreos, sin la implantación de esta medida y tras aplicar el tratamiento de la cama, en granjas de cría y en granjas de cebo, respectivamente, ha sido:

Tabla 16: Resultados para *Salmonella* en Cama Tratada con Cal.

GRANJAS DE RECRÍA			
Toma de muestra	Nº de muestras	Positivas <i>Salmonella</i>	% Positivas <i>Salmonella</i>
Sin tratamiento de la cama	160	32	20'00%
Con tratamiento de la cama	164	18	10'98%

GRANJAS DE CEBO			
Toma de muestra	Nº de muestras	Positivas <i>Salmonella</i>	% Positivas <i>Salmonella</i>
Sin tratamiento de la cama	1117	275	24'62%
Con tratamiento de la cama	1206	245	20'32%

Los resultados obtenidos muestran que el efecto del tratamiento de la cama es muy acusado en recría, pasando de 20'00% de presencia de *Salmonella* a 10'98% de presencia de *Salmonella*, lo cual supone una bajada del 9'02%. La reducción de manadas positivas obtenida en esta etapa de la crianza es del 45'10%.

En las granjas de cebo, en cambio, el descenso del número de positivos para *Salmonella* no es tan importante, ya que la reducción es de un 4.3%, pasando de 24'62% de granjas positivas para *Salmonella* a 20'32% de granjas con presencia del patógeno. La reducción de manadas positivas obtenida en este caso es del 17'47%.

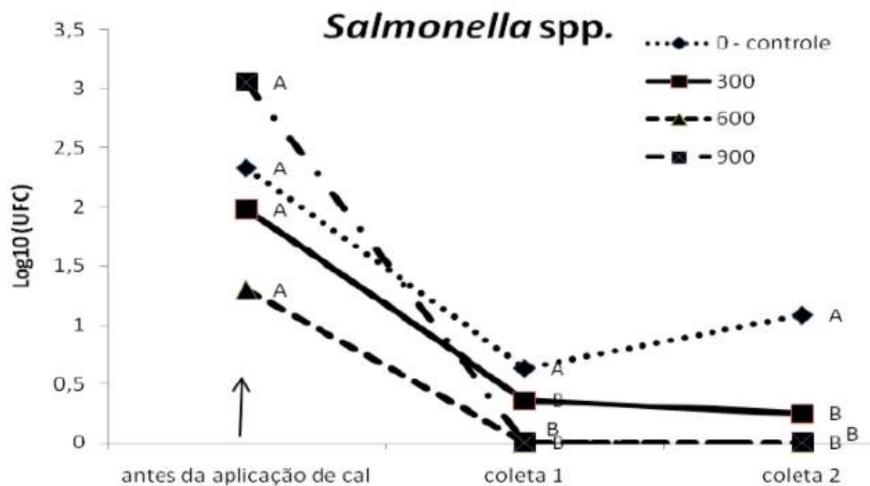
No obstante, el análisis estadístico de los resultados muestra que la reducción de granjas afectadas por *Salmonella* es significativa ( $P < 0'05$ ) en todos los casos ( $p = 0'024$  en recría y  $p = 0'012$  en granjas de cebo).

En un estudio realizado en granjas de pavos de Carolina del Norte encontraron que existe relación entre la presencia de *Salmonella* en cama y la presencia de *Salmonella* en heces. De 48 muestras analizadas de cama y 48 muestras de heces, se obtuvo presencia de *Salmonella* en el 79% de las muestras de yacija y en el 70% de las muestras fecales (Santos et al., 2005).

Además, en este mismo estudio, determinaron que las poblaciones de *Salmonella* de la cama estaban relacionadas con parámetros de esta como pH, contenido de amoníaco y humedad.

En otro estudio, con aplicación de 300g/m<sup>2</sup> de cal virgen en la cama se redujo *Salmonella* en un 82%. Con dosis de 600g/m<sup>2</sup> y 900g/m<sup>2</sup> se observó una reducción del 100%. En el tratamiento control, en el cual no se aplicó la cal, la cama permaneció contaminada durante todo el período experimental. De este modo, los tratamientos con cal virgen, con dosis a partir de 300g/m<sup>2</sup>, serían eficientes para el control de las *Salmonella* spp. (Dai Pra et al., 2009).

Figura 17: Efecto de la aplicación de cal virgen sobre *Salmonella* spp (log10 ufc)



Fuente: Dai Pra et al. (2009)

En otro diseño experimental se realizó, in vitro, tratamiento de cama con ácido cítrico, ácido tartárico y ácido salicílico. Se ensayó la respuesta de

*Escherichia coli* y *Salmonella* Enteritidis frente a diferentes concentraciones de estos ácidos tras diferentes tiempos de exposición.

Tras 24 horas de exposición no se detectó crecimiento microbiano de ninguna de las dos especies. Para *S. Enteritidis* fue suficiente con 60 minutos de exposición para no obtener crecimiento (Ivanov, 2001).

### 8.3 Mejora higiénica del agua: ACIDIFICACIÓN DEL AGUA DE BEBIDA

Los resultados obtenidos para *Salmonella* en los distintos muestreos, previa a la implantación de esta medida y tras aplicar el tratamiento higienizante del agua de bebida, en granjas de cría y en granjas de cebo, respectivamente, fue:

Tabla 17: Resultados para *Salmonella* antes y después de realizar acidificación de agua de bebida en granjas.

GRANJAS DE RECRÍA			
Toma de muestra	Nº de muestras	Positivas <i>Salmonella</i>	Positivas <i>Salmonella</i> (%)
Antes de acidificar agua de bebida	160	32	20%
Después de acidificar agua de bebida	405	53	13'09%
GRANJAS DE CEBO			
Toma de muestra	Nº de muestras	Positivas <i>Salmonella</i>	Positivas <i>Salmonella</i> (%)
Antes de acidificar agua de bebida	1117	275	24'62%
Después de acidificar agua de bebida	1506	236	15'67%

En granjas de cría se pasa de 20% de granjas positivas para *Salmonella* a 13'09% de presencia de *Salmonella*, lo cual supone una reducción del 6'91% de las granjas positivas. Se reducen, por tanto, en un

34'55% los lotes contaminados con este patógeno a la salida de esta etapa de crianza.

En las granjas de cebo, el descenso de positivos de *Salmonella* es de 24'62% a 15'67%, siendo la bajada, por tanto, de 8'95%. La reducción de manadas positivas obtenida en este caso es del 36'35%.

En ambos casos, tanto en recrios como en cebaderos, en base al análisis estadístico de los resultados, se concluye que la reducción de manadas positivas para *Salmonella* es significativa ( $P < 0'05$ ), resultando  $p=0'03$  en granjas de recría y  $p < 0'0001$  en cebo.

En un estudio con pollos infectados con *Salmonella enteritidis* se comprobó que tras ingerir durante 48 horas agua de bebida tratada con ácidos orgánicos (acético, láctico, propiónico, tánico y caprílico), a razón 1:128, se redujo significativamente la prevalencia de *S. Enteritidis* en el buche y las amígdalas cecales de las aves estudiadas.

Los resultados fueron de 100% de presencia de *Salmonella* en el grupo control, al que se le administró agua potable sin tratar con ácidos orgánicos, y de 75% en el grupo de aves que tomaron agua tratada, en el caso del buche, y 55% para este mismo grupo a nivel de amígdalas cecales (Wolfenden et al., 2007).

Byrd y colaboradores (2001) estudiaron el efecto del tratamiento de agua de bebida con ácido láctico, acético o fórmico, al 0'5%, sobre *Salmonella* y *Campylobacter*, en las 8h de ayuno previo al transporte de pollos a matadero.

Cuando se realizó el tratamiento con ácido fórmico, la presencia de *Salmonella typhimurium* en el buche de las aves pasó de 53% en el grupo

control a 36'8% en el grupo con tratamiento. En el ciego, por su parte, la reducción fue desde 66'3% en animales control a 51'7% en aves tratadas.

Tabla 18: Efecto de ácido acético, ácido láctico y ácido fórmico sobre *Salmonella typhimurium* en buche y ciego de pollos de engorde.

Group	Log <sub>10</sub> <i>Salmonella</i> /g crop contents	Crop culture positive/total (%)	Crop pH (n = 40)	Log <sub>10</sub> <i>Salmonella</i> /g ceca contents	Ceca culture positive/total (%)
Control	1.45 + 1.52 <sup>a</sup>	53/100 (53%)	5.77 + 0.82 <sup>a</sup>	2.33 + 1.98 <sup>a</sup>	53/80 (66.3%)
Acetic acid (0.5%)	0.96 + 1.35 <sup>b</sup>	45/100 (45%)	5.34 + 0.75 <sup>b</sup>	1.70 + 1.49 <sup>b</sup>	49/80 (61.3%)
Lactic acid (0.5%)	0.79 + 1.30 <sup>b</sup>	31/100 (31%)*	4.79 + 0.87 <sup>c</sup>	1.93 + 1.78 <sup>ab</sup>	47/80 (58.8%)
Formic acid (0.5%)	0.94 + 1.36 <sup>b</sup>	28/76 (36.8%)*	4.80 + 1.00 <sup>c</sup>	1.73 + 1.40 <sup>b</sup>	31/60 (51.7%)

Fuente: Byrd et al. (2001)

Además, también se observó reducción en los recuentos, tanto en buche como en ciego de animales que tomaron agua tratada con ácido fórmico con respecto al grupo control. En este caso, se pasó de 1'45 log<sub>10</sub>*Salmonella*/g a 0'94 log<sub>10</sub>/g en buche, y de 2'33 log<sub>10</sub>*Salmonella*/g a 1'73 log<sub>10</sub>/g en ciego.

Por el contrario, en un estudio llevado a cabo sobre pollos de engorde machos se observó que la acidificación del agua, hasta pH 3, con ácido fórmico, no ofrece beneficios sobre la microbiota intestinal de las aves (Açıkgöz et al., 2011). Aunque se observaron diferencias entre los recuentos de microorganismos totales y de *E.coli* entre grupo control y grupo al que se le administró agua acidificada, dichas diferencias no fueron significativas.

Además, se comprobó el efecto que tiene la acidificación del agua sobre el rendimiento de los animales y se determinó que la reducción del pH del agua afectó al peso de los animales, a pesar de que no se observaron diferencias en cuanto a consumo de alimento e índice de conversión.

Tabla 19: Efecto de la administración de ácido fórmico en agua de bebida sobre rendimiento y microbiota intestinal.

Traits	Experimental groups		Probability (p-value)
	Control	Formic acid	
Body weight (g/bird)			
21 d	752.29±5.59 <sup>a</sup>	731.96±6.48 <sup>b</sup>	0.0185
42 d	2,257.06±19.92 <sup>a</sup>	2,193.30±19.32 <sup>b</sup>	0.0224
Feed intake (g/bird)			
0-21 d	781.57±11.53	792.45±14.29	0.5852
22-42 d	2,755.04±72.78	2,706.63±35.83	0.5828
0-42 d	3,536.61±82.99	3,499.08±32.04	0.6948
Feed conversion ratio (g/g)			
0-21 d	1.12±0.02	1.15±0.01	0.2756
22-42 d	1.89±0.07	1.91±0.01	0.7830
0-42 d	1.64±0.05	1.67±0.00	0.6720
Mortality (%)			
0-42 d	5.19±1.79	3.18±1.41	0.3775
Gizzard pH	3.67±0.09	3.52±0.16	0.4359
Intestinal microflora			
<i>Total organisms</i> (log <sub>10</sub> cfu/g)	6.17±0.62	5.84±0.50	0.7385
<i>E. coli</i> (log <sub>10</sub> cfu/g)	4.15±0.96	4.02±0.78	0.9355
<i>Salmonella</i> -positive intestinal content (positive samples/total samples)	2/6	1/6	0.8858

Fuente: Açıkgöz et al. (2011)

#### 8.4 Higiene del pienso: CONTROL DE PIENSOS EMPLEADOS PARA CRÍA Y ENGORDE

Tras el análisis de las muestras de piensos tomadas en las diferentes fábricas de pienso estudiadas, no se detectó *Salmonella* en ninguna de las muestras analizadas, tanto de pienso granulado como de pienso en migaja.

Tabla 20: Resultados para *Salmonella* en piensos producidos.

FÁBRICA DE PIENSOS I			
Tipo de pienso	Nº de muestras	Positivas para <i>Salmonella</i>	Positivas para <i>Salmonella</i> (%)
Pienso Granulado	51	0	0%
Pienso en Migaja	47	0	0%

FÁBRICA DE PIENSOS II			
Tipo de pienso	Nº de muestras	Positivas para <i>Salmonella</i>	Positivas para <i>Salmonella</i> (%)
Pienso Granulado	49	0	0%
Pienso en Migaja	49	0	0%

FÁBRICA DE PIENSOS III			
Tipo de pienso	Nº de muestras	Positivas para <i>Salmonella</i>	Positivas para <i>Salmonella</i> (%)
Pienso Granulado	50	0	0%
Pienso en Migaja	48	0	0%

Los resultados obtenidos en pienso granulado coinciden con los de Cox y colaboradores (1983). En el estudio llevado a cabo por ellos no detectaron *Salmonella* en 15 muestras de pienso en pellet.

Sin embargo, en ese mismo estudio sí que determinaron presencia de *Salmonella* en piensos en migaja. Resultaron positivos para este patógeno 15 de 26 muestras de pienso en harina analizadas, lo que supone el 58%.

Jones y Richardson (2004) en un estudio realizado sobre *Salmonella* en piensos comerciales encontraron muestras positivas para dicho microorganismo tanto en piensos granulados como en piensos harinas.

Los resultados muestran que el porcentaje de piensos contaminados es mayor entre los piensos en migaja (16/178; 8'99%) que entre los peletizados (21/451; 4'66%).

Además, en este mismo estudio se concluyó que las muestras de pienso positivas para *Salmonella* también contienen mayores recuentos de enterobacterias que las no contaminadas.

Tabla 21: Recuentos de *Enterobacteriaceae* y contaminación por *Salmonella* en piensos.

<i>Salmonella</i> status	Feed type			
	Mash		Pellets	
	n <sup>1</sup>	EC <sup>2</sup>	n	EC
Negative	162	3.82 ± 0.14 <sup>a</sup>	430	1.59 ± 0.09 <sup>a</sup>
Positive	16	4.20 ± 0.33 <sup>b</sup>	21	2.35 ± 0.39 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Means within a column with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup>Number of samples assayed.

<sup>2</sup>*Enterobacteriaceae* counts = mean log<sub>10</sub> colony-forming units per gram ± standard error.

Fuente: Jones y Richardson (2004)

En esto coinciden Cox y colaboradores (1983), quienes en pienso en harina determinaron un recuento promedio de enterobacterias de 4'1 log/g, mientras que en pienso granulado el recuento promedio fue de 0'8 log/g. Además, en este estudio, se determinó que el 100% de las muestras de pienso en migaja analizadas contenían enterobacterias, mientras que de los piensos en pellet solo el 60% contenía dichos microorganismos.

Bucher y colaboradores (2007) encontraron que 10 de 111 muestras de pienso de pollo peletizado eran positivas para *Salmonella*.

Del total de muestras estudiadas, 98 contenían únicamente materias primas vegetales, y en los 13 piensos restantes se habían empleado tanto ingredientes vegetales como de origen animal.

Se determinó que el porcentaje de muestras contaminadas era mayor en muestras en las que se habían empleado materias primas vegetales y animales (2/13; 15%) que en las que solo se usaron ingredientes vegetales (8/98; 8%)

Tabla 22: Prevalencia de *Salmonella* en pienso granulado de pollo elaborado con ingredientes de origen animal y vegetal (mixto) así como de origen vegetal únicamente.

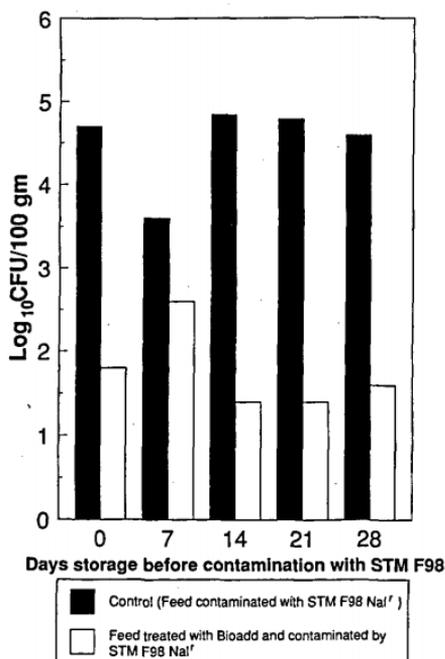
Ingredient origin	No. of samples	No. of lots	No. (%) of positive samples/lot
Vegetable	98	98	8 (8)
Mixed	13	13	2 (15)
Total	111	111	10 (9)

Fuente: Bucher et al. (2007)

Con respecto al control de *Salmonella* con ácidos orgánicos, como es el caso de los piensos en migaja estudiados, en un estudio realizado con piensos inoculados con *S. typhimurium* se comprobó que la adición de una mezcla de ácido fórmico y ácido propiónico (Bio-add™) ejercía efecto bactericida en el pienso durante el almacenamiento (Iba y Berchieri, 1995).

Para el ensayo se fabricó pienso que contenía Bio-add™. En diferentes momentos, durante 28 días de almacenamiento, se tomaron 2 kg de este pienso y 2 kg de pienso control, sin ácidos orgánicos en su composición. Ambos piensos se contaminaron con *S. typhimurium* y tres días después se realizó recuento de *Salmonella*.

Figura 18: Recuentos de *S.typhimurium* que sobrevive en pienso tratado con Bio-add™ y pienso no tratado, contaminados después de tiempos diferentes de almacenamiento.



Fuente: Iba y Berchieri (1995)

Por otro lado, en este mismo estudio, se alimentó a pollos de engorde en los primeros 5 días de vida, por grupos de 10 animales, con piensos contaminados con 4 serotipos diferentes de *Salmonella*: *S.enteritidis*, *S.infantis*, *S.typhimurium* y *S.agona*. Además, para cada serovariedad se emplearon piensos tratados con ácidos orgánicos y piensos no tratados.

En el quinto día se sacrificó a las aves y se realizó recuento de *Salmonella* en ciego. En 3 de los 4 grupos a los que se administró pienso contaminado con *Salmonella* pero tratado con Bio-add™ no se detectó *Salmonella* en ninguno de los pollos. Sí que se detectaron para la serovariedad *S.infantis*, pero con recuentos inferiores a todos los grupos de pienso contaminado y no tratado con ácido fórmico y ácido propiónico.

Tabla 23: Recuentos de *Salmonella* en ciego de pollos alimentados con pienso contaminado con diferentes serotipos de *Salmonella*, y tratados o no tratados con Bio-add™.

Bio-add™ in feed	Log <sub>10</sub> median viable count per g (range in parentheses) of <i>Salmonella</i> organisms in caecal contents of chickens given feed contaminated with			
	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. infantis</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. agona</i>
Treated	< 2	6.75	< 2	< 2
Untreated	8.70 (5.2–8.9)	9.00 (9.0–9.1)	8.35 (7.4–9.1)	9.10 (7.8–9.2)

Fuente: Iba y Berchieri (1995)

## 8.5 Higiene en el transporte de animales: LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE CAJAS, JAULAS Y VEHÍCULOS EMPLEADOS PARA EL TRANSPORTE DE PAVOS POR CARRETERA.

El resultado obtenido para *Salmonella* en los distintos sistemas empleados para el transporte de los pavos ha sido No Detectado en el 100% de las muestras.

Tabla 24: Resultados para *Salmonella* en muestras de cajas empleadas para el transporte de pavos desde incubadora hasta granjas de recría.

	Nº muestras	Positivas para <i>Salmonella</i>	Positivas para <i>Salmonella</i> (%)
Muestreo 1	10	0	0%
Muestreo 2	10	0	0%
Muestreo 3	10	0	0%
Muestreo 4	10	0	0%
Muestreo 5	10	0	0%
Muestreo 6	10	0	0%
Muestreo 7	10	0	0%
Muestreo 8	10	0	0%
Muestreo 9	10	0	0%
Muestreo 10	10	0	0%

Tabla 25: Resultados para *Salmonella* en muestras de cajas empleadas para transporte de pavos desde granjas de recría hasta granjas de cebo.

	Nº muestras	Positivas para <i>Salmonella</i>	Positivas para <i>Salmonella</i> (%)
<b>Muestreo 1</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 2</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 3</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 4</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 5</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 6</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 7</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 8</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 9</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 10</b>	10	0	0%

Tabla 26: Resultados para *Salmonella* en muestras de cajas empleadas para transporte de animales desde granjas de cebo hasta matadero.

	Nº muestras	Positivas para <i>Salmonella</i>	Positivas para <i>Salmonella</i> (%)
<b>Muestreo 1</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 2</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 3</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 4</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 5</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 6</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 7</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 8</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 9</b>	10	0	0%
<b>Muestreo 10</b>	10	0	0%

En un matadero de aves de Dinamarca se realizó un estudio sobre presencia de *Salmonella*. En dicho estudio se detectó que los tres puntos del matadero en los que se encontraba este patógeno con mayor frecuencia eran la lavadora de cajas (62'5%), los bastidores de cajas limpios (50%) y la lavadora de bastidores (42'9%) (Olsen et al., 2003).

Tabla 27: Orden de clasificación de los puntos de control muestreados en la línea de sacrificio según el número de muestras positivas para *Salmonella*.

Rank	Control point (number in Figure1)	Positive samples	% positive
1	Crate washer (1)	10/16	62.5
2	Cleaned crate racks (4)	8/16	50.0
3	Rack washer (3)	6/14	42.9
4	Plucker (8)	13/32	40.6
5	Opening machine (11)	6/16	37.5
6	Giblet system (14)	6/16	37.5
7	Cleaned crates (4)	11/32	34.4
8	Packing machine (17)	5/16	31.3
9	Organ remover (12)	5/16	31.3
10	Transfer machinery (9)	5/16	31.3
11	Collection bin (16)	4/15	26.7
12	Neck skin slitter (6)	4/16	25.0
13	Spray cooler (15)	4/32	12.5
14	Neck breaker (10)	2/16	12.5
15	Scalding bath (7)	2/16	12.5
16	In/outside washing (13)	1/16	6.3
17	Crate disinfect. bath (2)	0/16	0.0

Fuente: Olsen et al., (2003)

Por otro lado, en dos compañías integradas de producción de pollo de Reino Unido se realizó un estudio con el objetivo de encontrar los orígenes y los mecanismos de contaminación por *Salmonella* (Corry et al., 2002).

Durante los primeros seis ensayos realizados en este estudio, entre noviembre de 1997 y junio de 1998, se observaron heces en cajas limpias, empleadas para el transporte de animales, y *Salmonella* se aisló en 21/60 (35%) cajas limpias y desinfectadas que se analizaron.

Estos resultados fueron peores que los de partida, es decir, se detectó *Salmonella* en mayor porcentaje de cajas una vez lavadas y desinfectadas que antes de estas operaciones (2/60, 3.33%).

Tabla 28: Resumen de los resultados de las siguientes manadas de pollos de engorde en el matadero (muestras positivas para *Salmonella* respecto del total de muestras analizadas).

Trial no. date, co., Salm. status	Crates		
	Before cleaning	Soak water	Post rinse & disinfect
Trial 1 Nov 1997, A1, positive <sup>7</sup>	0/10*	ND	2/10 <sup>1,2</sup>
Trial 4 April 1998, A1, negative	0/10	ND	1/10 <sup>13</sup>
Trial 6 June 1998, A1 positive <sup>11</sup>	1/10 <sup>11</sup>	1/2 <sup>8</sup>	4/10 <sup>5,8,12</sup>
Trial 2 Jan. 1998, B3 positive <sup>3,5,11</sup>	1/10 <sup>5</sup>	ND	5/10 <sup>11,15</sup>
Trial 3 April 1998, B4 positive <sup>3,11</sup>	0/10	ND	9/10 <sup>11</sup>
Trial 5 May 1998, B2 positive <sup>11,13</sup>	0/10	1/2 <sup>11</sup>	0/10

*Fuente: Corry et al., (2002)*

Los motivos por los que las cajas de transporte estaban contaminadas fueron los siguientes (Corry et al., 2002):

- Limpieza inadecuada, quedando residuos de materia fecal.
- Concentración de desinfectante y temperatura de lavado demasiado bajas.

La dosis de desinfectante recomendada por el fabricante es de 1% y se detectó 0'1%. Por otro lado, la temperatura del agua de lavado empleada era de 11'4°C.

- Uso de agua reciclada que estaba contaminada.

En 1980, Rigby y colaboradores, realizaron un estudio en el que encontraron relación entre las serovariedades de *Salmonella* halladas en cajas de plástico empleadas para el transporte de pollos y las encontradas en los animales a la llegada al matadero y en las canales procesadas (Rigby et al., 1980). Por tanto, las cajas pueden ser fuente importante de contaminación.



# CONCLUSIONES



## 9. CONCLUSIONES

### Bioseguridad: LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE GRANJAS.

En todas las muestras tomadas tras aplicar limpieza y desinfección no se detecta *Salmonella*, lo cual indica que ambos métodos de desinfección son eficaces y que todos los desinfectantes empleados resultan efectivos, independientemente del nivel de contaminación de partida, antes de realizar LD.

Por tanto, desinfección por contacto es efectiva al igual que con termonebulización y los 4 desinfectantes ensayados ofrecen los mismos resultados.

### Mejora del manejo: ALCALINIZACIÓN DE LA CAMA

Recría: La reducción de los casos de presencia de *Salmonella* en esta etapa de cría confirma que el tratamiento de la cama con cal contribuye de forma significativa al control de *Salmonella* en esta fase.

La reducción de manadas positivas obtenida en esta etapa de la crianza es del 45'10%.

CEBO: La reducción de manadas positivas obtenida en este caso es del 17'47%. Descenso no tan importante.

En ambos casos el tratamiento de la cama con cal proporciona mejoras en cuanto a contaminación con *Salmonella* de las manadas.

### Mejora higiénica del agua: ACIDIFICACIÓN DEL AGUA DE BEBIDA

Los resultados obtenidos muestran que el efecto del tratamiento del agua de bebida con una mezcla ácida que contiene ácido fórmico, ácido ortofosfórico y ácido propiónico es acusado tanto en recría como en cebo.

En base a los resultados obtenidos podría concluirse que se obtiene una mejora similar en granjas de recría y granjas de cebo en cuanto a descenso de granjas contaminadas con *Salmonella*, siendo dicha disminución de 34'55% en recría y 36'35% en cebo.

Por tanto, a la luz de estos resultados, el tratamiento del agua de bebida con ácidos es una medida efectiva para control de *Salmonella* en ambas etapas del proceso productivo.

### Higiene del pienso: CONTROL DE PIENSOS EMPLEADOS PARA CRÍA Y ENGORDE

No se detectó *Salmonella* en pienso granulado ni en pienso en migaja.

Esto es indicativo de que en el caso de los primeros el proceso de granulación es efectivo y se consigue obtener un pienso con las adecuadas condiciones higiénicas. Para los piensos en migaja, en los que no existe este tratamiento, la adición de ácidos a las materias primas tras la recepción y durante el almacenamiento logran que no se desarrolle este microorganismo, lo que puede suponer un peligro biológico en el pienso acabado, fruto de únicamente la molienda de las materias primas.

En base a los resultados obtenidos puede concluirse que para esta empresa el pienso empleado en la alimentación de los animales no es foco de contagio con *Salmonella*, ya que tras la producción está libre de este patógeno.

**Higiene en transporte de animales: LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE CAJAS, JAULAS Y VEHÍCULOS EMPLEADOS PARA EL TRANSPORTE DE PAVOS POR CARRETERA.**

En todas las muestras de cajas y jaulas analizadas tras la limpieza y desinfección no se detecta *Salmonella*, lo cual indica que estas operaciones se realizan adecuadamente y están libres de este patógeno, no suponiendo este un foco de contaminación.



# **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AÇIKGÖZ, Z., BAYRAKTAR, H. and ALTAN, Ö. (2011). *Effects of formic acid administration in the drinking water on performance, intestinal microflora and carcass contamination in male broilers under high ambient temperature*. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 24(1), 96-102.

ADELANTADO y colaboradores. (2008). *La Salmonella, de actualidad desde siempre*. España: Real Escuela de Avicultura.

AENOR. (2008). *Norma UNE 171210:2008: Buenas prácticas en los planes de desinfección, desinsectación y desratización*. España.

ALBUQUERQUE, R., ITO, N.M.K. e MIYAJI, C.I. (1998). *Tratamento de rações de aves com ácidos orgânicos: estudo da atividade bactericida e avaliação de técnicas de recuperação de Salmonella spp*. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 35(6), 279-282.

ALIMARKET. (2017). *Informe del mercado de la carne de pavo 2017: Nuevos actores para el creciente mercado del pavo*. España.

ALVIS, N. y VALENZUELA, M.T. (2010). *Los QALYs y DALYs como indicadores sintéticos de salud*. Revista Médica de Chile, 138(2), 83-87.

AMARAL, L. A. (2004). *Drinking water as a risk factor to poultry health*. Brazilian Journal of Poultry Science, 6(4), 191-199.

ÁNGEL-HERNÁNDEZ, A. y colaboradores. (2014). *Historia, domesticación y situación actual del guajolote (Meleagris gallopavo gallopavo) en México*. Revista Mexicana de Agroecosistemas, 1(2), 132-143.

ANÓNIMO. (2003a). *Directiva 2003/99/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 17 de noviembre de 2003 sobre la vigilancia de las zoonosis*

*y los agentes zoonóticos y por la que se modifica la Decisión 90/424/CEE del Consejo y se deroga la Directiva 92/117/CEE del Consejo.*

*ANÓNIMO. (2003b). Reglamento (CE) 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo de 17 de noviembre de 2003 sobre el control de la Salmonella y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos.*

*ANÓNIMO. (2004). Reglamento (CE) 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 relativo a la higiene de los productos alimenticios.*

*ANÓNIMO. (2005a). Reglamento (CE) 183/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de enero de 2005 por el que se fijan requisitos en materia de higiene de los piensos.*

*ANÓNIMO. (2005b). Reglamento 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.*

*ANÓNIMO. (2008). Reglamento (CE) 584/2008 de la Comisión de 20 de junio de 2008 por el que se aplica el Reglamento (CE) 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta al objetivo comunitario de reducción de la prevalencia de la Salmonella enteritidis y la Salmonella typhimurium en los pavos*

*ANÓNIMO. (2011). Importancia de agua en la producción de pollo. Obtenida el 24 de mayo de 2016 en <http://www.elsitioavicola.com/articles/2035/importancia-de-agua-en-la-produccion-de-pollo-1/>*

*ANÓNIMO. (2012). Reglamento (UE) 1190/2012 de la Comisión de 12 de diciembre de 2012 relativo a un objetivo de la Unión para la reducción de Salmonella Enteritidis y Salmonella Typhimurium en las manadas de pavos,*

de conformidad con lo dispuesto en el Reglamento (CE) 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo.

ANÓNIMO. (2014). *Funciones que debe cumplir una cama en Avicultura*. Obtenida el 10 de mayo de 2016 en <http://agrinews.es/2014/02/04/funciones-que-debe-cumplir-una-cama-en-avicultura/>

AO, T.T. et al. (2015). *Global burden of Invasive Nontyphoidal Salmonella Disease, 2010*. *Emerging Infectious Diseases*, 21(6), 941-949.

ARELLANO, G. (2014). *Conservación y calidad de la yacija en naves de pollos*. *Albéitar*, 176, 38-40.

ARREBOLA, F. y colaboradores. (2013). *Bienestar animal en el transporte*. Sevilla: Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente: Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera.

AVILA L.A.F., DE; NASCIMENTO, V.P., DO; CANAL, C.W., SALLE, C.T.P and MORAES, H.L. DE S. (2003). *Effect of acidified drinking water on the recovery of Salmonella enteritidis from broiler crops*. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 5(3), 183-188.

BANADA, P.P and BHUNIA, A.K (2008). *Antibodies and immunoassays for detection of bacterial pathogens*. En ZOUROB, M., ELWARY, S. and TURNER, A. (Eds.) *Principles of bacterial detection: Biosensor, Recognition Receptors and Microsystems*.

BASE DE DATOS ESPAÑOLA DE COMPOSICIÓN DE ALIMENTOS. <http://www.bedca.net/bdpub/index.php>. Consultado en enero 2019.

BHANDARE, S.G. and SHEARD, P. (2010). *Handle birds with care up to shackle*. *World Poultry*, 26(2), 56-57.

BLOCK, S.S. (1991). *Desinfection, sterilization and preservation*. 4th Edition. Filadelfia y Londres: Lea y Febiger.

BUCHER, O. et al. (2007). *Occurrence and characterization of Salmonella from chicken nuggets, strips, and pelleted broiler feed*. Journal of Food Protection, 70(10), 2251-2258.

BYRD, J.A. (1999). *Pre-harvest intervention strategies*. 71<sup>st</sup> North-Eastern Conference on Avian Diseases, Blacksburg, Virginia, June 16-18.

BYRD, J.A. et al. (2001). *Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on Salmonella and Campylobacter contamination of broilers*. Poultry Science, 80, 278-283.

CABRERA, O. (2014). *El uso de los acidificantes en avicultura*. Obtenida el 24 de mayo de 2016 en <http://agrinews.es/2014/03/18/el-uso-de-los-acidificantes-en-avicultura/>

CAMACHO-ESCOBAR, M.A., JIMÉNEZ-HIDALGO, E., ARROYO-LEDEZMA, J., SÁNCHEZ-BERNAL, E.I. y PÉREZ-LARA, E. (2011). *Historia natural, domesticación y distribución del guajolote (Meleagris gallopavo) en México*. Universidad y Ciencia Trópico Húmedo, 27(3), 351-360.

CANTARO, H., SÁNCHEZ, J. y SEPULVEDA, P. (2010). *Cría y engorde de pavos*. Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

CARDOSO, M.O et al. (2008). *In vitro efficiency of disinfectants against Salmonella enteritidis samples isolated from broiler carcasses*. Brazilian Journal of Poultry Science, 10(2), 139-141.

CARRIQUE-MAS, J.J., MARÍN, C., BRESLIN, M., MCLAREN, I. and DAVIES, R. (2009). *A comparison of the efficacy of cleaning and disinfection methods in eliminating Salmonella spp. from comercial egg laying houses*. Avian Pathology, 38 (5), 419-424.

CARTER, G.F. (1971). *Chapter 9. Pre-Columbian chickens in America*. En RILEY, C.L., KELLEY, J.C., PENNINGTON, C.W. and RANDS, R.L. (Eds.) *Man*

*across the Sea. Problems of Pre-Columbian contacts.* University of Texas Press, Austin.

CEA. (2001). *Crianza de pavos.* Editorial Iberoamericana, S.A. de C.V. México DF, 8-14

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION: CODEX COMMITTEE ON FOOD HYGIENE. (1993). *Guidelines for the application of Hazard Analysis Critical Control Point (APPCC) System.* Food and Agriculture Organization/World Health Organization.

COOKE, F.J., THRELFALL, E.J. and WAIN, J. (2007). *Current trends in the spread and occurrence of human salmonellosis: molecular typing and emerging antibiotic resistance.* En RHEN, M., MASKEN, D., MASTROENI, P. and THRELFALL, J. (Eds.) *Salmonella: molecular biology and pathogenesis.*

CORNELISON, J., WILSON, M. and WATKINS, S. (2005). *Effects of water acidification on turkey performance.* Avian Advice, 7(2), 1-3.

CORRY, J.E.L., ALLEN, V.M., HUDSON, W.R., BRESLIN, M.F. and DAVIES, R.H. (2002). *Sources of Salmonella on Broiler Carcasses during Transportation and Processing: Modes of Contamination and Methods of Control.* Journal of Applied Microbiology, 92, 424-432

COX, N.A., BAILEY, J.S. and THOMSON, J.E. (1983). *Salmonella and other Enterobacteriaceae found in commercial poultry feed.* Poultry Science, 62(11), 2169-2175.

CRACRAFT, J. (1968). *First record of the turkey Meleagris gallopavo from the Pleistocene of Mexico.* The Condor, 7(3), 274.

CRAWFORD, R.D. (1984). *Chapter 47. Turkey.* En MASON, I.L. (Ed.) *Evolution of domesticated animals.* Longman Inc., New York.

CRAWFORD, R.D. (1992). *Introduction to Europe and diffusion of domesticated turkeys from the America*. Archivos de Zootecnia, 41(154), 307-314.

DAI PRA, M.A. et al. (2009). *Quicklime for controlling Salmonella spp. an Clostridium spp. in litter from floor pens of broilers*. Ciencia Rural, 39 (4), 1189-1194.

DAVIES, R. and BRESLIN, M. (2003). *Observations on Salmonella contamination of commercial laying farms before and after cleaning and disinfection*. The Veterinary Record, 152(10), 283-287.

DAVISON, S., BENSON, C.E. and ECKROADE, R.J. (1996). *Evaluation of disinfectants against Salmonella enteritidis*. Avian Diseases, 40(2), 272-277.

DOLZ, M.A. (2009). *La producción de pavos en España*. Selecciones avícolas, enero 2009, 59-62.

DWIVEDI, H.P., DEVULDER, G. and JENUJA, V.K (2014). *Salmonella: Detection by immunoassays*. En BATT, C.A. and TORTORELLO, M-L. (Eds.) *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2nd Edition.

EGUINO, P. y LANA, M.P. (2006). *Bioseguridad en las Granjas – Las 3 D: Desinfección, Desratización y Desinsectación*. Navarra Agraria, Mayo-Junio, 53-59.

EUROPEAN COMMISSION. (2001). *Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health: The cleaning and disinfection of knives in the meat and poultry industry*.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. (2012). *Scientific Opinion on an estimation of the public health impact of setting a new target for the reduction of Salmonella in turkeys*.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. (2016). *The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks 2015*.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. (2017). *The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks 2016*.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. (2018). *The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017*.

EFSA and ECDC. (2019). *The European Union One Health 2018 Zoonoses Report*.

FAO. (2005). *World watch list for domestic animal diversity*. Second Ed. Roma, Italia.

FEN. (2007). *La alimentación española: características nutricionales de los principales alimentos de nuestra dieta*. Madrid.

FLANNERY, K.V. (1967). *Vertebrate fauna and hunting patterns*. En BYERS, D.S. (Ed.) *Prehistory of Tehuacan Valley, Vol. I: Environment and Subsistence*. University of Texas Press, Austin, 132-177.

GAUTHIER, R. *La Salud Intestinal: Clave de la Productividad. El Caso de los Ácidos Orgánicos*. Obtenida el 12 de febrero de 2018 en <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/salud-intestinal-clave-productividad-t26193.htm>.

GONZÁLEZ, T. y ROJAS, R.A. (2005). *Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico*. Salud Pública México, 47(5).

HERNÁNDEZ, J y colaboradores. (2013). *Efecto del manejo pre-mortem en la calidad de la carne*. Nacameh, 7(2), 41-64.

HEYMANN, D.L. (2005). *El control de las enfermedades transmisibles*. Washington, D.C.

HOWARD, R. and MOORE, A. (1984). *A complete checklist of birds of the world, revised edition*. Macmillan, Londres.

HUSSAIN, M.A. and DAWSON, C.O. (2013). *Economic impact of food safety outbreaks on food businesses*. *Foods*, 2(4), 585-589.

IBA, A.M. and BERCHIERI, A. (1995). *Studies on the use of a formic acid-propionic acid mixture (Bio-add™) to control experimental Salmonella infection in broiler chickens*. *Avian Pathology*, 24(2), 303-311.

ISRAELSEN, M., HANSEN, I.D. and JACOBSEN, E. (1996). *Don't grow Salmonella in the pellet cooler*. *Feed International*, 17, 34-38.

IVANOV, I.E. (2001). *Treatment of broiler litter with organic acids*. *Research in Veterinary Science*, 70, 169-173.

JÁTIVA, J.A. (2005). *Vacío sanitario de las granjas y la higiene en la cría de broilers*. Jornadas Profesionales de Avicultura de Carne, Valladolid, Abril 25-27.

JEFATURA DEL ESTADO. (2003). *Ley 8/2003, de 24 de abril, de Sanidad Animal*. España.

JONES, F.T. and RICHARDSON, K.E. (2004). *Salmonella in commercially manufactures feeds*. *Poultry Science*, 83, 384-391.

JONES, F.T. (2011). *A review of practical Salmonella control measures in animal feed*. *The Journal of Applied Poultry Research*, 20, 102-113.

KAHRS, R.F. (1995). *Principios generales de la desinfección*. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties, 14(1), 143-163.

LLORENTE, J. y GIL, J.A. (2006). *Centros de limpieza y desinfección de vehículos*. Hojas Divulgadoras MAGRAMA, 2115 HD, 30-31

LÓPEZ B., C.J. (2001). *Capítulo 3: Producción de animales de carne*. En MARTÍN B., S. (Ed). *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos: Volumen I*. España.

MACIOROWSKI, K.G., JONES, F.T., PILLAI, S.D. and RICKE, S.C. (2004). *Incidence, sources, and control of food-borne Salmonella spp. in poultry feed*. World's Poultry Science Journal, 60, 446-457.

MACIOROWSKI, K.G., HERRERA, P., JONES, F.T., PILLAI, S.D. and RICKE, S.C. (2007). *Effects on poultry and livestock of feed contamination with bacteria and fungi*. Animal Feed Science and Technology, 133, 109-136.

MAGRAMA. (2004). *Guía de buenas prácticas de higiene en granjas avícolas de puesta*. España.

MAGRAMA. (2005). *Guía de buenas prácticas de higiene para el control y la prevención de Salmonella zoonótica en explotaciones avícolas de producción de carne de pollo*. España.

MAGRAMA. (2012). *Guía de trabajo para prevenir y controlar la contaminación por Salmonella spp. en la explotación avícola*. España.

MAGRAMA. (2013). *Informe de zoonosis y resistencias antimicrobianas*. España.

MAGRAMA. (2016). *Programa nacional para la vigilancia y control de determinados serotipos de Salmonella en pavos de reproducción y de engorde*. España.

MALORNY, B., HAUSER, E. and DIECKMANN, R. (2011). *New approaches in subspecies-level Salmonella classification*. En PORWOLIK, S. (Ed.) *Salmonella: from genome to function*.

MAPA. (2019). *Programa nacional de control de determinados serotipos de Salmonella en pavos de engorde y reproducción 2019*. España.

MARQUES RIBEIRO, M., NEUMANN, V.A., PADOVEZE, M.C. and GRAZIANO, K. (2015). *Efficacy and effectiveness of alcohol in the disinfection of semi-critical materials: a systematic review*. Revista Latino-Americana de Enfermagem, 23 (4), 741-752.

MIKOLAJCZYK, A. (2015). *Evaluation of the effects of a mixture of organic acids and duration of storage on the survival of Salmonella on turkey carcasses*. Journal of Food Protection, 78 (3), 585-589.

MILBRADT, E.L. et al. (2017). *Use of organic acids and a competitive exclusion product as growth promoter and Salmonella enteritidis control in commercial turkeys*. Brazilian Journal of Poultry Science, 19(4), 551-558.

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. (2003). *Real Decreto 328/2003, de 14 de marzo, por el que se establece y regula el plan sanitario avícola*. España.

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. (2005). *Real Decreto 1084/2005, de 16 de septiembre, de ordenación de la avicultura de carne*. España.

MINISTERIO DE LA PRESIDENCIA. (2003). *Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano*. España.

MINISTERIO DE LA PRESIDENCIA. (2005). *Real Decreto 1559/2005, de 23 de diciembre, sobre condiciones básicas que deben cumplir los centros de limpieza y desinfección de los vehículos dedicados al transporte por carretera en el sector ganadero*. España.

MINISTERIO DE LA PRESIDENCIA. (2010). *Real Decreto 692/2010, de 20 de mayo, por el que se establecen las normas mínimas para la protección de los pollos destinados a la producción de carne y se modifica el Real Decreto*

1047/1994, de 20 de mayo, relativo a las normas mínimas para la protección de terneros. España.

MOORMAN, M., NETTLETON, W., RYSER, E., LINZ, J. and PESTKA, J. (2005). *Altered sensitivity to a quaternary ammonium sanitizer in stressed Listeria innocua*. Journal of Food Protection, 68(8), 1659-1663.

MORENO G., B. (2006). *Procedimientos recomendados e interpretación de normativa legal*. 45-46. Madrid.

MUELLER-DOBLIES, D., CARRIQUE-MAS J.J. and DAVIES, R.H. (2014). *A study of the dynamics of Salmonella infection in turkey breeding, rearing and finishing houses with special reference to elimination, persistence and introduction of Salmonella*. Avian Pathology, 43 (2), 146-154.

MYGIND, J. (2004). *The Danish Salmonella control programme for the production of table eggs and broilers: an overview*.

NAHM, K.H. (2007). *Environmental effects of chemical additives used in poultry litter and swine manure*. Critical Reviews in environmental. Science and Technology, 35(5), 487-513.

NAPE, W.F. (1968). *Recovery of Salmonella from material in feed mills*. Proceedings, Annual Meeting of the United States Animal Health Association, 72, 144-156.

OLSEN, J.E., BROWN, D.J., MARSEN, M. and BISGAARD, M. (2003). *Cross-contamination with Salmonella on a broiler slaughterhouse line demonstrated by use of epidemiological markers*. Journal of Applied Microbiology, 94, 826-835.

OMS y FAO. (2008). *Producción de alimentos de origen animal*. Roma.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. (2016). *10 datos sobre la inocuidad de los alimentos*.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. (2017). *Nota descriptiva: Inocuidad de los alimentos*.

PANACHLOR. (2014). *Química Básica del Cloro*. Obtenido en <http://panachlor.com/?p=5>

PASCUAL, M.R. (2005). *Enfermedades de origen alimentario: su prevención*. España.

QUILES, A. y HEIVA, M.L. (1998). *La calidad del agua en avicultura*. Selecciones Avícolas, julio, 403-406.

RAUGEL, P.J. (2012). *Rapid food analysis and hygiene monitoring: Kits, Instruments and Systems*.

RICKE, S.C. (2005). *Ensuring the safety of poultry feed*. En MEAD, G.C. (Ed.) *Food Safety Control in the Poultry Industry*. Woodhead Publishing Ltd., 174-194.

RIGBY, C.E. et al. (1980). *Sources of salmonellae in an uninfected commercially-processed broiler flock*. Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science, 44(3), 267-274.

RIGBY, C.E. et al. (1982). *The relationships of salmonellae from infected broiler flocks, transport crates or processing plants to contamination of eviscerated carcasses*. Canadian Journal of Comparative Medicine, 46, 272-278.

ROMERO PEÑUELA, M.H., URIBE-VELÁSQUEZ, L.F. y SÁNCHEZ VALENCIA, J.A. (2011). *Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne*. Biosalud, 10 (1).

RUBIO, J. (2005). *Suministro de agua de calidad en las granjas de broilers*. Jornadas Profesionales de Avicultura de Carne, Valladolid, Abril 25-27.

RUIZ, E. y TABARES, J. (2013) *La sanidad del agua de bebida en avicultura*. Selecciones avícolas, agosto, 1-5.

SALAZAR, S. (1990). *Cría y explotación del guajolote en México*. México DF.

SANTOS, F. B. O., LI X., PAYNE J. B. and SHELDON B. W. (2005). *Estimation of most probable number Salmonella populations on commercial North Carolina turkey farms*. Journal of Applied Poultry Research, 14, 700-708.

SCHORGER, A.W. (1966). *The Wild Turkey: Its History and Domestication*. University of Oklahoma Press.

SMITH, A.F. (2006). *The Turkey: An American Story*. University of Illinois Press.

SMYSER, C.F. and SNOEYENBOS, G.H. (1979). *Evaluation of organic acids and other compounds as Salmonella antagonists in meat and bone meal*. Poultry Science, 58, 50-54.

SOCKETT, P. (1993). *Social and economic aspects of food-borne disease*. Food Policy, 18(2), 110-119.

STEADMAN, D.W. (1980). *A review of the Osteology and Paleontology of turkeys (Aves: Meleagridae)*. Contribution of the Science and Natural History Museum of Los Angeles County California, 330, 131-207.

STOTT, J.A., HODGSON, J.E. and CHANEY, J.C. (1975). *Incidence of salmonellae in animal feed and the effect of pelleting on content of enterobacteriaceae*. The Journal of Applied Bacteriology, 39, 41-46.

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE PRODUCTOS GANADEROS, MAPAMA. (2017). *El sector de la carne en cifras: Principales indicadores económicos en 2016*. España.

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE PRODUCTOS GANADEROS, MAPA. (2019). *El sector de la avicultura de carne en cifras: Principales indicadores económicos 2018*. España.

TABIB, Z., JONES, F.T. and HAMILTON, P.B. (1984). *Effect of pelleting of poultry feed on the activity of molds and mold inhibitor*. Poultry Science 63, 70-75.

THORNTON, E.K. et al. (2012). *Earliest Mexican turkeys (Meleagris gallopavo) in the Maya Region: Implications for Pre-Hispanic animal trade and the timing of turkey domestication*. PLoS ONE, 7(8).

TUDELA DE LA ORDEN, J. (1993). *Historia de la ganadería hispanoamericana*. Ediciones de Cultura Hispánica. Madrid.

TURNER, B.J. (2008). *Manejo y Reuso de Cama - Tratamiento para Prevención de Enfermedades*. Tech Notes Aviagen, Agosto.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. (2017). *Cost of foodborne illness estimates for Salmonella (non-typhoidal)*. Obtenido en <https://www.ers.usda.gov/data-products/cost-estimates-of-foodborne-illnesses/>.

URIBE, C. y SUÁREZ, M.C. (2006). *Salmonellosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar*. Colombia Médica, 37(2).

VACA A., L. (2010). *Tema VI: Sistemas de explotación. Instalaciones y Equipo*. En *Producción Avícola*. EUNED.

VALADEZ, A.R., GARCÍA, C.R., RODRÍGUEZ, G.B. Y GAMBOA, C.L. (2001). *Los guajolotes y la alimentación prehispánica*. Ciencia y Desarrollo, 157(17), 55-63.

VALADEZ, A.R. (2003). *Domesticación y zootecnia en el México Antiguo*. Animales en el México Prehispánico, 3(4), 33-45.

VAN IMMERSEEL, F. et al. (2009). *Strategies to control Salmonella in the broiler production chain*. World's Poultry Science Journal, 65(3), 367-392.

VELUZ, G.A., PITCHIAH, S., BRASHEARS, M.M. and ALVARADO C.Z. (2014). *Efficacy of quaternary ammonium compounds on different conveyor chips contaminated with poultry rinsate*. Food Protection Trends, 34(1), 15-19.

WALES, A., BRESLIN, M., CARTER, B., SAYERS, R. and DAVIES, R. (2007). *A longitudinal study of environmental salmonella contamination in caged and free-range layer flocks*. Avian Pathology, 36(3), 187-197.

WATKINS, S. (2007). *Higiene en las conducciones de agua de bebida*. Tech Notes Aviagen, Agosto.

WEGENER, H.C. et al. (2003). *Salmonella Control Programs in Denmark*. Emerging Infectious Diseases, 9(7), 774-780.

WOLFENDEN, A.D. et al. (2007). *Effect of organic acids and probiotics on Salmonella enteritidis Infection in broiler chickens*. International Journal of Poultry Science, 6(6), 403-405.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2015). *WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015*.



# ANEXO



Se recoge a continuación la publicación aportada como indicio de calidad de la Tesis.

**Título: Monitoring hygienic measures for decreasing *Salmonella* occurrence in Turkey Barns**

**Autores: Nazaret Cano, Francisco Arispón, Rafael Jordano, Luis M. Medina**

**Revista: Archiv für Lebensmittelhygiene / Archives of Food Hygiene**

Department of Food Science and Technology. Faculty of Veterinary  
Medicine. University of Cordoba, Rabanales Campus, 14071  
Cordoba, Spain

**Monitoring hygienic measures for decreasing  
*Salmonella* occurrence in Turkey Barns**

**Überwachung der Hygienemaßnahmen zur  
Verriegerung der Salmonellenvorfall in Truthahnfarmen**

Nazaret Cano, Francisco Arispón, Rafael Jordano, Luis M.  
Medina

## Summary

The objective of this study was to evaluate a series of measures aimed at reducing the occurrence of *Salmonella* in turkeys bred in Spain, during all the stages prior to the slaughterhouse stage.

The following measures were evaluated: (a) control in feed production; B) cleaning and disinfection of farms (by thermo-fogging or spraying, using three disinfectants); c) treatment of litter using  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ; d) treatment of drinking water with an acidifying mixture based on formic acid, orthophosphoric acid and propionic acid; and (e) cleaning and disinfection of boxes, cages and vehicles.

All the measures tested proved to be effective, especially the control of feed production and the treatments for cleaning and disinfecting farms, boxes, cages and vehicles, which resulted in the absence of *Salmonella* in all the samples tested. In the case of disinfectants 3 and 4, the results were not statistically significant. Treatment of the litter reduced the percentage presence of *Salmonella* by almost 50% on untreated rearing farms, and on fattening farms by 17.5%. In terms of the treatment of drinking water, the treatment carried out in both rearing and fattening farms decreased the occurrence of *Salmonella* (34.5% and 36.2%, respectively) with respect to the percentages obtained on farms prior to treatment.

**Keywords:** *Salmonella*, turkey production, hygienic measures, VIDAS system

## Zusammenfassung

Das Hauptziel dieser Untersuchung war, eine Reihe von Maßnahmen auszuwerten, um das Vorkommen von Salmonellen in Spanien geborenen Truthähnen zu reduzieren, besonders bevor der Schlachthaus-Stufe.

Die genommene Maßnahmen betreffen: (a) Kontrolle der Viehfutterproduktion; b) Reinigung und Desinfektion von Bauernhöfen (durch thermo-fogging oder Sprühen, mit drei Desinfektionsmittel); c) Behandlung der Abfall mit  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ; d) Behandlung des Trinkwassers mit einer Säueren-Mischung aus

Methansäure, Orthophosphor-Säure und Propionsäure; und (e) Reinigung und Desinfektion von Kästen, Truthahnställe und Fahrzeuge.

Alle geprüfte Maßnahmen wirken geeignet dafür, besonders die Kontrolle der Viehfutterproduktion und der Reinigung-Verfahren wirksam zu sein, um zu reinigen, und Bauernhöfe, Kästen, Truthahnställe und Fahrzeuge zu desinfizieren, ohne man Salmonellen auf keinem Fall fand. Bei den Desinfektionsmitteln 3 und 4 sind die Ergebnisse statistisch nicht signifikant.

Die Behandlung der Abfall reduzierte die Anwesenheitsprozent von Salmonellen durch fast 50 % auf unbehandelten Bauernhöfen, und auf Futter-Bauernhöfen durch 17.5 %. In Bezug auf die Behandlung des Trinkwassers warf die als Resultat die Reduzierung des Salmonellen-Vorherrschens (34.5 % hinaus, und 36.2 %, beziehungsweise) in beiden Anlagen, in Bezug auf die Prozentsätze der nicht behandelten Bauernhöfen.

**Schlüsselwörter:** *Salmonella*, VIDAS system, Truthähnen-Zucht, Hygienemaßnahme

## Introduction

In the European Union (EU), and concretely in Spain, specific regulations have been developed for the control of food-borne zoonoses (European Parliament and European Council, 2003; MAPA, 2005). In breeding and fattening turkeys, the focus has mainly been on the control of *Salmonella spp.* (European Commission, 2012; MAPAMA, 2016). Reducing the occurrence of this microorganism in all stages of production is a priority objective (MAPAMA, 2016). High prevalence rates can only be combatted through a holistic view of the entire process, including feed production for the breeding and fattening of these animals.

The essential measures for controlling *Salmonella spp.* include the control of raw materials, cleaning and disinfection of equipment, warehouses and means of transport, and the thermal treatment and/or addition of authorized additives in the feed production process (MAPAMA, 2016). A European regulation also makes it mandatory for feed producers to ensure that production, processing and

distribution comply with best practices, in order to guarantee feed hygiene (European Parliament and Council, 2005).

The entry of microorganisms in facilities can be avoided by controlling the raw materials used to manufacture feed and by applying biosecurity measures (MAPA, 2005). Microorganisms in feed can be destroyed by applying thermal and chemical treatments or a combination of both. Processes such as granulation, agglomeration, expansion and extrusion can be performed to sanitize feed (Ricke 2005; Jones 2011).

The growth of pathogenic microorganisms must be controlled on farms by applying different measures (Byrd et al., 2001; Dai Pra et al., 2009; Iba and Berchieri, 1995; Ivanov, 2001; Mueller-Doblies et al., 2014; Wolfenden et al., 2007). Fundamentally, good hygienic practices must be considered: proper cleaning and disinfection (Mueller-Doblies et al., 2014), as well as rodent control of production buildings (MAPAMA, 2016). Turkey houses can be disinfected by contact or by airborne disinfection. Some of the disinfectants most commonly used and recommended in animal health can be enhanced through combination with glutaraldehyde (Kahrs, 1995). Also, correct litter management is a critical aspect of poultry farming. Litter quality per se influences *Salmonella* populations (Santos et al., 2005). Turkey litters can mainly be treated with chemicals, notably aluminum, calcium and iron-containing compounds (Nahm, 2005), which are mixed with the litter during the breeding process. Calcium-containing compounds such as limestone may be attractive for utilization due to their low cost (Nahm, 2005). Treatments with organic acid have also been reported (Ivanov, 2001).

As regards drinking water, there is no regulation on the parameters to be controlled and their acceptable limits. The quality standards established in Spanish regulations regarding drinking water for human consumption (Ministerio de la Presidencia, 2003), must guarantee the absence of *Salmonella spp.*; the supply of acidified drinking water can contribute to this purpose (Smyser and Snoeyenbos 1979; Avila et al., 2003; Mikolajczyk, 2015; Milbradt et al., 2017), and even improve turkey performance (Cornelison et al., 2005).

In terms of the transport of animals and their equipment, national regulations establish specific procedures, as is the case in Spain (Ministerio de la Presidencia, 2005).

The objective of this study was to evaluate a series of measures aimed at reducing the occurrence of *Salmonella* in turkeys bred on

Spanish farms under production conditions during all the stages prior to the slaughterhouse stage.

## **Materials and Methods**

### **Feed production and control**

The feed for turkey breeding and fattening was produced at three factories in Spain. Table 1 shows the biological hazard control points that were considered and the measures studied. During the reception of raw materials and premixes, a sample was collected for the laboratory and an entry record was completed for each type of raw material and premix, including all the necessary data for control and traceability. The reference values for controlling the moisture of the materials and premixes were as follows: 12.5% for soybean 47, 13% for barley, 14% for domestic wheat and 14.5% for imported wheat. The reference values for specific weight were 64 and 72kg/hl for barley and wheat, respectively. Any substances and premixes that did not comply with the aforementioned values were rejected and notified to the supplier. The received and accepted raw material was identified and stored in silos in conditions similar to those used in the normal production of the company, using the FIFO (first in, first out) method. The storage silos and circuits were made of materials suitable for their intended purpose, were independent, and were cleaned periodically (every six months). Crushing was performed using vertical hammer mills, which were cleaned daily. Dosing was performed from cells using extraction apparatus such as oscillating scrapers or augers, which discharged their contents onto the dosing scale. The ingredients were mixed in a blender for approximately 4 minutes. The mixer was cleaned daily. The liquid ingredients were incorporated into the mixer in such a way that they fell on the solid ingredients, rather than on the inner wall of the mixer. Granulation was performed mechanically and was divided into three phases: hydrothermal conditioning, compression-extrusion and cooling-drying. Hydrothermal conditioning was performed by injecting steam into a homogenizer or conditioner directly on the milled mixture, the feed reaching a temperature of 75-80 °C. Compression-extrusion was performed using granulators, containing a vertical matrix with meal compression rollers. In this stage the temperature conditions (>65°C) to which each type of production batch was subjected were controlled continuously

in order to prevent pathogen survival. Cooling-drying was carried out in cooling equipment to reduce granule temperature and moisture, by means of air. The granules entered the cooler with a moisture content of 14-15% and a temperature of 60-70°C, and left with a moisture content of 11-12% and a temperature of 20-30°C. The feed was then stored (<72 hours) and shipped in bulk.

Once the feed had been produced, the presence of *Salmonella* in the feed (pellets and crumbs) produced in each of the 3 factories was monitored. For this purpose, a sample of each type of feed produced at the factories was taken once a week for one year. The sampling point was established in the storage silo prior to shipment. One hundred and fifty analyses of granular feed and 144 analyses of crumb feed were performed.

### **Cleaning and disinfection of farms**

Disinfection was carried out in two different ways, depending on the turkey breeding stage, i.e. rearing (1-28 days) or fattening (29-105 days for hens and 29-125 days for males). On rearing farms, it was performed by thermo-fogging, after cleaning, and with a safety period of 24-36h. On the fattening farms, however, disinfection was carried out by spraying from a tank containing the diluted disinfectant. The period without turkeys was 12d, and the units tested were different to others checked for the other hygienic measures, or delayed until one month after litter treatment application in each case. A disinfectant containing didecyl dimethyl ammonium chloride, benzalkonium chloride, glutaraldehyde and isopropanol (disinfectant 1) was used for disinfection by means of thermo-fogging (Virocid®; Cid Lines NV/SA, Belgium). The dose was 1% of mixing using the Ultra Low Volume (UBV) technique for nebulization. In spray disinfection, different disinfectants were rotated to avoid the development of resistance by microorganisms. The disinfectants used, diluted to 0.5-1%, and the order of rotation, were as follows: disinfectant 2 (with glutaraldehyde, alkyl benzyl dimethyl ammonium chloride, propan-2-ol and methanol); disinfectant 3 (with hydrogen peroxide, peracetic acid and acetic acid); and disinfectant 4 (with didecyldimethylammonium chloride and glutaraldehyde). A disinfectant formulated in spray, composed of glutaraldehyde and dimethylbenzylammonium chloride, was applied for disinfection of the silos. An insecticide was used for desinsectation, the active substance of which was cypermethrin.

In order to control the efficiency of the cleaning and disinfection of the farms, 10 samples were taken randomly using sterile wipes (BioMèrieux, ref. CHI100N) at several points in the turkey houses (from different surfaces and equipment, such as walls, ventilation, troughs, water dispensers, as well as critical points). Sampling was performed before and immediately after the application of the cleaning and disinfection protocol. Sampling was repeated 7/8 times (depending on the production cycle of the barns tested) on the rearing farms and 3/4 times on the fattening farms. On the fattening farms, a sample was taken of each disinfectant used to determine whether any disinfectant was more effective than the others.

### **Litter treatment**

The measure studied in both the rearing and fattening stages was the application of  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , which was spread over the floor (consisting of 10cm-thick concrete, using concrete HA -  $25\text{kg}/\text{cm}^2$ ) of the turkey house using a spreader or by hand. The litter was then placed on top of it. During the time that the litter remained in the turkey house, it was moved to aerate it and prevent it from becoming too moist, which could lead to caking of the wood shavings. After the animals left the farm, the litter was removed and new litter for the next production batch was dispensed. In order to determine the impact of this measure on the presence of *Salmonella*, samples were taken using boot swabs (StériSox®; Sodibox, France) on the farms before and after the treatment. Samples were collected by placing boot swabs on the boots worn by the person taking the sample, who then walked through the different sections of the turkey house, in accordance with MAPAMA (former Spanish Ministry of Agriculture, Fisheries and Food) (2016). For this purpose, the boot swabs had to be pre-wetted with a solution containing 0.8% NaCl and 0.1% peptone. Once the samples had been taken, the boot swabs were removed, thus preventing the detachment of the adhered material. In the case of rearing farms, the boot swabs were collected just before the animals left for the fattening farms. On the fattening farms, sampling was performed 3 weeks before the fattening phase was completed.

### **Treatment of drinking water**

The treatment consisted of adding 0.02-0.07% of an acidifying mixture (50% formic acid, 10% orthophosphoric acid and 5% propionic acid) to drinking water during the rearing and fattening

steps, until pH=5.3. pH was periodically controlled using a pH-meter CRISON pH25. In order to determine the impact of this measure on the presence of *Salmonella* in barns, samples were taken using boot swabs following the procedure explained for the evaluation of litter treatment. Samples were taken from both the rearing and fattening farms. Sampling was performed in accordance with the Spanish Programme for the monitoring and control of certain serotypes of *Salmonella* in turkeys (MAPAMA, 2016; MAPAMA, 2019). To avoid confusing results, different units of farms were controlled in the application of litter treatment and drinking water measures.

### **Cleaning and disinfection of boxes, cages and vehicles**

The boxes used to transport the animals between the different stages were cleaned and disinfected in a washing area designated specifically for this purpose, consisting of 4 well-differentiated areas: an area for storing dirty boxes, followed by an area for washing boxes, an area for storing clean boxes and, finally, an area for washing lorries. For box washing, cleaning and disinfection was carried out in automatic washing machines, at a temperature of 50°C, dosing a non-foaming degreasing product prepared from surfactants and sequestrants in 4% solution in water. The cleaning and disinfection of the empty cages was carried out in a washing machine located on the aforementioned bay specifically for that purpose. The slaughterhouse premises had a special washing area where vehicles were cleaned and disinfected after unloading. The flow was adequate to prevent any cross contamination. The samples were taken from both boxes in the box washing area and cages in the live animal loading bay. In the case of boxes and cages, a sample was taken per box/cage, with 10 samples taken daily on 10 different sampling days. For sampling, sterile wipes (bioMérieux, ref. CHI100N) were used.

### **Determination of *Salmonella***

For this purpose, the VIDAS<sup>TM</sup>UP SALMONELLA protocol (BioMérieux, Madrid, Spain), an automated qualitative test for *Salmonella* based on phage recombinant protein technology, was used in accordance with ISO 16140. For the preparation and analysis of the samples, 1:10 dilutions of samples in peptone water were prepared into sterile bags using an automated gravimetric diluent. The selective enrichment supplement was then added for *Salmonella*, at a rate of 2 ml per 25 g of sample to be analyzed. The contents of the sample were

homogenized in a Stomacher™ and then incubated for 18-24 h, at  $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$ . After the incubation phase, a subculture of 1 ml of sample was prepared in 9 ml of selective enrichment broth for *Salmonella* (SX2 broth). These tubes were incubated again at  $41.5 \pm 1^\circ\text{C}$  for 6-24 h. After incubation, 500µl of sample was added to a *Salmonella* detection cartridge and heated for  $5 \pm 1$  min by dry heat (VIDAS® Heat&Go, BioMèrieux, Madrid, Spain). After heating, the samples were placed in the immuno-analyzer, where all the steps of the analysis were automatically performed after the VIDAS®SPT solution had been selected. The result was obtained in 48 min, and was expressed as presence/absence of *Salmonella*.

### **Statistical Analysis**

Statistical analysis was carried out using the SPSS 15.0 Software package (IBM Company, USA). The efficiency of the tested measures was determined by comparing the percentage of *Salmonella* occurrence before and after the treatment. For this purpose, a non-parametric chi square ( $X^2$ ) test with a level of significance of 5% ( $P < 0.05$ ) was performed. To confirm the efficacy of the disinfectants studied, the Fisher exact test ( $P < 0.05$ ) was used by comparing results before and after the application of each disinfectant.

### **Results**

Feed production and control measures, as well as those applied for the cleaning and disinfection of boxes, cages and vehicles, proved to be effective as shown by the absence of *Salmonella* after their application. The results of the cleaning and disinfection measures applied on the farms are shown in Tab. 2. The litter treatment results are shown in Tab. 3. The treatment of drinking results are shown in Tab. 4.

TABLE 1: Control points for the biological hazards considered and measures studied

Feed production phase	Hygiene measures
Purchase and reception of raw materials	Organoleptic control
	Humidity control
	Specific weight control
	Mixture of acids at the entrance
Storage of raw materials	Use of the FIFO Method
	Cleaning
Grinding	Cleaning of the mill
Weighing and dosage	Cleaning of equipment
Mixing	Cleaning of equipment
	Contaminant control (laboratory analysis)
Granulation and cooling	Hydrothermal conditioning temperature control
	Compression-extrusion temperature control
	Cooling-drying temperature control
	Cooling-drying humidity control
Storage and shipping	Control of storage time
	Vehicle cleaning
Biosafety of facilities	Design of facilities
	Vehicle cleaning

TABLE 2: Detection of Salmonella before and after cleaning and disinfection of farms.

Rearing farms (disinfection by thermo-fogging)			
	Sampling timing	No. of farms sampled	Salmonella-positive (%)
Disinfectant 1 (sampling 1)	Before C&Da	20	7 (35)
	After C&D	20	0 (0)
Disinfectant 1 (sampling 2)	Before C&D	20	6 (30)
	After C&D	20	0 (0)
Disinfectant 1 (sampling 3)	Before C&D	20	4 (20)
	After C&D	20	0 (0)
Fattening farms (disinfection by spray)			
	Sampling timing	No. of farms sampled	Salmonella-positive (%)
Disinfectant 2	Before C&D	9	4 (44.4)
	After C&D	9	0 (0)
Disinfectant 3	Before C&D	13	2 (15.4)
	After C&D	13	0 (0)
Disinfectant 4	Before C&D	8	3 (37.5)
	After C&D	8	0 (0)

a C&D: Cleaning and disinfection

TABLE 3: Influence of litter treatment on the presence of Salmonella.

Rearing farms			
Time of sampling	Farms	Samples <sup>1</sup>	Salmonella-positive samples (%)
Before Ca(OH) <sub>2</sub> added	20	160	32 (20.00)
After Ca(OH) <sub>2</sub> added	20	164	18 (10.98)
a Each farm was sampled 7 or 8 times, depending on the number of cycles of production by year			
Fattening farms			
Time of sampling	Farms	Samples <sup>1</sup>	Salmonella-positive samples (%)
Before Ca(OH) <sub>2</sub> added	322	1117	275 (24.62)
After Ca(OH) <sub>2</sub> added	322	1206	245 (20.32)
a Each farm was sampled 3 or 4 times, depending on the number of cycles of production by year			

TABLE 4: Detection of Salmonella before and after the acidification of drinking water.

Rearing farms			
Time of sampling	Farms	Samples	Salmonella-positive samples (%)
Before acidification	20	160	32 (20)
After acidification	20	405	53 (13.1)
Fattening farms			
Time of sampling	Farms	Samples	Salmonella-positive samples (%)
Before acidification	322	1117	275 (24.6)
After acidification	322	1506	236 (15.7)

## Discussion

Animal feed may serve as a carrier for a wide variety of microorganisms (Maciorowski et al., 2007). Microorganisms can affect feed quality negatively by reducing dry matter and nutrients, causing musty or sour odours, and caking of the feed and/or producing toxins, as well as by carrying animal and human pathogens (Maciorowski et al., 2007). Different authors have reported the occurrence of *Salmonella* in both crumb and pelletized feed (Bucher et al., 2007; Cox et al., 1983; Jones, 2011; Jones and Richardson, 2004). The results obtained in the present study, revealing the absence of *Salmonella*, indicate that the action protocol should be maintained due to its effectiveness. The result in crumb feed was striking. This feed was not subjected to the granulation process, hence the risk of contamination was greater as no heat or mechanical treatment was applied to ensure the feed produced was sterile. Storage for a short period of time minimizes the risk of contamination (Maciorowski et al., 2007). Moreover, the 65°C limit was considered adequate for this purpose and to avoid contaminants. Microorganisms present in raw materials, such as *Salmonella*, are mostly thermosensitive and the combination of temperature and pressure applied during the granulation process, as well as the time during which they are applied, together with humidity, are the main factors for reducing the occurrence of microorganisms in feed (Stott et al., 1975; Maciorowski et al., 2004). Thus, the feed obtained must be practically sterile. This was confirmed in our experiment.

The cleaning and disinfection results obtained for the 4 disinfectants used were highly satisfactory, although the differences between the occurrence of *Salmonella* before and after the treatment cannot be considered statistically significant in the case of disinfectants 3 and 4 ( $P=0,14$  and  $P=0.054$ , respectively), probably due to the low number of positive cases prior to the treatment. Starting with initial percentages of between 15.4% and 44.4% of the farms affected, the absence of *Salmonella* was achieved on those farms when both thermo-fogging and spray treatments were applied. In the case of thermo-fogging treatment, quaternary ammonium compounds dissolve the cell membrane of the bacteria and the virus protective capsule, and this action is enhanced by isopropanol (Marques Ribeiro et al., 2015). Other compounds, such as glutaraldehyde, block the action of enzymes and denature proteins. The effectiveness of

glutaraldehyde against *Salmonella* has been studied previously (Carrique-Mas et al., 2009). According to Mueller-Doblies et al. (2014), the total number of positive samples found at a post-cleaning and disinfection visit is correlated with the probability of carry-over of infection, whereas the location of the positive samples seems to be less important.

The treatment of the litter induced alkalinization ( $\text{pH} > 8.5$ ), thus preventing the development of many bacteria. In fact, the addition of  $300 \text{ g/m}^2$  of lime to the floor of the broiler breeding houses increased pH approximately ten-fold and reduced the number of CFUs of *Salmonella* by over 80%. At higher concentrations of quicklime, a reduction in the total colonies of this pathogen present in the litter can be achieved (Dai Pra et al., 2009). In addition to creating a hostile environment for microorganisms due to the variation in pH, lime reduces litter water activity. In our experiment, the results obtained after the treatment of the litter significantly reduced ( $P < 0.05$ ) the percentage of farms affected by *Salmonella* in all the cases (Tab. 2).

In relation to the treatment of drinking water, the aim was to reduce pH to 5-5.5. Additionally, the formation of biofilms inside water conduits is prevented and intestinal pH is also reduced (Ávila et al., 2003). This creates an inadequate environment for the development of pathogenic microorganisms, such as *Salmonella*. In our experiment, the treatment applied in both rearing and fattening farms resulted in a significant ( $P < 0.05$ ) decrease (34.5% and 36.2%, respectively) with respect to the percentages obtained on the farms prior to treatment, as can be seen in Tab. 3. Byrd et al. (2001) evaluated the use of selected organic acids (0.5% acetic, lactic, or formic) in drinking water during a simulated 8-h pre-transport feed withdrawal. Treatment with lactic acid (31/100) of *Salmonella Typhimurium* recovery or formic acid (28/76) caused a significant reduction in incidence compared with 53/100 control crops acid-treated broilers. Wolfenden et al. (2007) also reported a decrease in *Salmonella enteritidis* recovery using a mix of organic acids in drinking water, and even improved the effect by including probiotics. Iba and Berchieri (1995) also reported a strong antibacterial effect of a formic acid-propionic acid commercial mixture against different *Salmonella* serotypes, but in this case mixing the acid product in feed, not in drinking water.

Finally, the cleaning and disinfection treatment applied to boxes, cages and vehicles resulted in the complete absence of *Salmonella*.

In conclusion, all the measures tested proved to be effective given the objectives of the study, prior to the slaughterhouse step.

## **Acknowledgements**

The authors would like to thank Agrifood Campus of International Excellence (ceiA3), for supporting this study and Dra. Belén Huerta (University of Cordoba) for her inestimable assistance.

## **Disclosure statement**

No potential conflict of interest was reported by the authors.

## **References**

- Avila LAF, de Nascimento VP, do Canal CW, Salle CTP, de S. Moraes HL (2003):** Effect of acidified drinking water on the recovery of *Salmonella* Enteritidis from broiler crops. *Brazilian J Poultry Sci* 5: 183-188.
- Bucher O, Holley RA, Ahmed R, Tabor H, Nadon C, Ng LK, D'Aoust JY. (2007):** Occurrence and characterization of *Salmonella* from chicken nuggets, strips, and pelleted broiler feed. *J Food Prot* 70(10): 2251-2258.
- Byrd, JA, Hargis, BM, Caldwell, DJ, Bailey, RH, Herron, KL, McReynolds, JL, Brewer, RL, Anderson, RC, Bischoff, KM, Callaway, TR, Kubena, LF. (2001):** Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broilers. *Poultry Science*, 80, 278-283.
- Carrique-Mas J, Marín C, Breslin M, McLaren I, Davies R. (2009):** A comparison of the efficacy of cleaning and disinfection methods in eliminating *Salmonella* spp. from commercial egg laying houses. *Avian Pathology* 38: 419-24.

- Cornelison J, Wilson M, Watkins S (2005):** Effects of water acidification on turkey performance. *Avian Advice* 7: 1-3.
- Cox NA, Bailey JS, Thomson JE. (1983):** *Salmonella* and other Enterobacteriaceae found in commercial poultry feed. *Poultry Sci* 62(11): 2169-2175.
- Dai Pra MA, Kunde E, Roll VF, Gonçalves E, Nichelle DC, Fernandes F, Teixeira J, Piccini A (2009):** Quicklime for controlling *Salmonella* spp. and *Clostridium* spp. in litter from floor pens of broilers. *Ciênc. Rural* 39: 1189-1194.
- European Parliament and European Council (2003):** Regulation (EC) No 2160/2003 of the European Parliament and of the Council of 17 November 2003 on the control of salmonella and other specified food-borne zoonotic agents
- European Parliament and European Council (2005):** Regulation (EC) No.183/2005 of the European Parliament and of the Council of 12 January 2005 laying down requirements for feed hygiene. European Union.
- European Commission (2012):** Regulation (EU) No 1190/2012 of 12 December 2012 concerning a Union target for the reduction of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in flocks of turkeys, as provided for in Regulation (EC) No 2160/2003 of the European Parliament and of the Council Text with EEA relevance
- Iba AM, Berchieri A. (1995):** Studies on the use of a formic acid-propionic acid mixture (Bio-add™) to control experimental *Salmonella* infection in broiler chickens. *Avian Pathology* 24(2): 303-311. doi: 10.1080/03079459508419071
- Ivanov IE. (2001):** Treatment of broiler litter with organic acids. *Res Vet Sci* 70: 169-173.
- Jones FT (2011):** A review of practical *Salmonella* control measures in animal feed. *J Appl Poultry Res* 20: 102-113.
- Jones FT, Richardson KE. (2004):** *Salmonella* in commercially manufactures feeds. *Poultry Sci* 83: 384-391.
- Kahrs RF (1995):** General principles for disinfection. *Scientific and Technical Rev Sci Tech (Off Int Epizoot)* 14: 143-163.
- Maciorowski KG, Jones FT, Pillai SD, Ricke SC. (2004):** Incidence, sources, and control of food-borne *Salmonella* spp. in poultry feed. *World's Poultry Science Journal*, 60, 446-457.
- Maciorowski KG, Herrera P, Jones FT, Pillai SD, Ricke SC (2007):** Effects on poultry and livestock of feed contamination with bacteria and fungi. *Animal Feed Sci Technol* 133: 109-136.

- MAPA, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2005):** Royal decree 1084/2005, 16<sup>th</sup> September, for the ordinance of aviculture for meat production. Madrid, Spain.
- MAPAMA, Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (2016):** National Programme for the vigilance and control of certain serotypes of *Salmonella* in turkeys. Madrid, Spain.
- MAPAMA, Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (2019):** National Programme for the vigilance and control of certain serotypes of *Salmonella* in rearing and fattening turkeys. Madrid, Spain.
- Marques Ribeiro M, Neumann VA, Padoveze MC, Uchikawa Graziano K. (2015):** Efficacy and effectiveness of alcohol in the disinfection of semi-critical materials: a systematic review. *Rev Latino-Am Enfermagem* 23: 741-752.
- Mikolajczyk A (2015):** Evaluation of the effects of a mixture of organic acids and duration of storage on the survival of *Salmonella* on turkey carcasses. *J Food Prot* 78: 585-589.
- Milbradt EL, Okamoto AS, Padovani CR, Fascina VB, Silva TM, Altarúgio R, Hataka A, Schmidt EMS, Andreatti Filho RL (2017):** Use of organic acids and a competitive exclusion product as growth promoter and *Salmonella* Enteritidis control in commercial turkeys. *Brazilian J Poultry Sci* 19: 551-558.
- Ministerio de la Presidencia (2003):** Royal decree 140/2003, 7<sup>th</sup> February, to establish healthy criteria for quality of potable water. Madrid, Spain.
- Ministerio de la Presidencia (2005):** Royal decree 1559/2005, 23<sup>rd</sup> December, about basic conditions to comply by cleaning and disinfection centres of vehicles used to transport of livestock by road. Madrid, Spain.
- Mueller-Doblies D., Carrique-Mas JJ, Davies RH. (2014):** A study of the dynamics of *Salmonella* infection in turkey breeding, rearing and finishing houses with special reference to elimination, persistence and introduction of *Salmonella*. *Avian Pathology* 43(2): 146-154.
- Nahm KH (2005):** Environmental effects of chemical additives used in poultry litter and swine manure. *Critical Rev Environ Sci Technol* 35: 487-513

- Ricke SC (2005):** Ensuring the safety of poultry feed. In: Mead Page GC (ed.), Food Safety Control in the Poultry Industry. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK, 174-194.
- Santos FBO, Li X, Payne JB, Sheldon BW. (2005):** Estimation of most probable number *Salmonella* populations on commercial North Carolina turkey farms. J Appl Poultry Res 14: 700- 708.
- Smyser CF, Snoeyenbos GH (1979):** Evaluation of organic acids and other compounds as *Salmonella* antagonists in meat and bone meal. Poultry Sci 58: 50-54.
- Stott JA, Hodgson JE, Chaney JC. (1975):** Incidence of salmonellae in animal feed and the effect of pelleting on content of Enterobacteriaceae. J Appl Bacteriol 39: 41-46.
- Wolfenden AD, Vicente JL, Higgins JP, Andreatti Filho RL, Higgins SE, Hargis BM, Tellez G. (2007):** Effect of organic acids and probiotics on *Salmonella enteritidis* Infection in broiler chickens. Int J Poultry Sci 6(6): 403-405.