

Identificación de *Salmonella* Enteritidis en huevo para consumo en la ciudad de México

Identification of *Salmonella* Enteritidis in table eggs in Mexico City

Arturo Mancera Martínez^a, Jesús Vázquez Navarrete^a, María de Lourdes Ontiveros Corpus^a, Sandra Durán Valencia^a, David López Huidobro^a, Víctor R. Tenorio Gutiérrez^a

RESUMEN

Es reconocido que *Salmonella* Enteritidis, es uno de los serotipos causantes de infección en aves y en diferentes especies animales, siendo una zoonosis causante de problemas entéricos en el humano. Se ha considerado al consumo de huevo contaminado como la principal vía de infección para el hombre. El objetivo del trabajo fue determinar la posible presencia de *Salmonella* Enteritidis en el huevo para consumo humano en la ciudad de México. Se muestrearon 400 huevos de 10 marcas comerciales. Se obtuvieron 131 aislamientos considerados en 12 diferentes géneros bacterianos: *Acinetobacter* sp., *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp., *Branhamella* sp., *Edwardsiella* sp., *Hafnia* sp., *Klebsiella* sp., *Serratia* sp., *Shigella* sp., *Staphylococcus* sp., *Yersinia* sp. y obteniendo una cepa de *Salmonella* Enteritidis, la cual se clasificó como no tipificable. Veinte aislamientos no pudieron ser clasificados. Se obtuvo un huevo contaminado por *Salmonella* Enteritidis, el cual en porcentaje del muestreo representó el 0.25 %; sin embargo se encontraron además 11 géneros bacterianos contaminantes que pudieran representar un riesgo para la producción avícola y la salud pública.

PALABRAS CLAVE: *Salmonella* Enteritidis, Huevo, Salud pública, México.

ABSTRACT

Salmonella Enteritidis (SE) has been recognized as one of the serotypes that cause infection in birds and other animal species. As a zoonotic pathogen, it also causes enteric problems in humans. Eating contaminated eggs has been recognized as the main route of infection for humans. The objective of this research was to determine the possible presence of SE in eggs for human consumption in Mexico City. Four hundred (400) eggs corresponding to 10 commercial brands were sampled. One hundred thirty one (131) isolates corresponding to 12 different bacterial genres were obtained, including *Acinetobacter* sp., *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp., *Branhamella* sp., *Edwardsiella* sp., *Hafnia* sp., *Klebsiella* sp., *Serratia* sp., *Shigella* sp., *Staphylococcus* sp., *Yersinia* sp., and one SE strain. This SE strain was categorized as a non-typeable strain. Twenty (20) isolates were impossible to be classified. One (1) SE-contaminated egg was obtained, representing 0.25 % of total samples. Also, 11 additional bacterial genres were found. These can represent a risk for both poultry production and public health.

KEY WORDS: *Salmonella* Enteritidis, Eggs, Public health, Mexico.

Los reportes sobre la incidencia de gastroenteritis causada por *Salmonella* Enteritidis (SE) en seres humanos se ha incrementado en muchas partes del mundo^(1,2,3). A pesar de que las fuentes de infección de la mayoría de los brotes en el hombre no son reconocidas, investigaciones epidemiológicas realizadas

Reports on the incidence of *Salmonella* Enteritidis (SE)-caused gastroenteritis in humans are increasing in many parts of the world^(1,2,3). Despite of the fact that in most human outbreaks the source of infection remains unidentified, epidemiological work performed in different nations has involved raw

Recibido el 19 de mayo de 2004 y aceptado para su publicación el 24 de septiembre de 2004.

^a Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias - Microbiología Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP); Km. 15.5 Carretera Federal México-Toluca, Colonia Palo Alto, Delegación Cuajimalpa, 05110, México, D.F. mancera.arturo@inifap.gob.mx . Correspondencia al primer autor.

Trabajo parcialmente financiado por el proyecto CONACYT 25900-B.

en diferentes naciones, han involucrado a los huevos crudos o subproductos semicosidos como vehículo de transmisión de SE a los consumidores^(4,5,6).

La infección por SE en gallinas de postura y pollos de engorda tiene importantes implicaciones en la salud pública mundial^(7,8,9). En estudios realizados por Gast y Beard, se demostró que en gallinas expuestas a SE por inoculación y contagio horizontal, se recuperó el germen de cloaca, huevo, ciego, hígado, bazo, ovario y oviductos^(10,11).

La producción de huevos contaminados es la consecuencia, epidemiológicamente hablando, más importante de las infecciones de SE en gallinas ponedoras. Esta contaminación, puede presentarse como resultado de la penetración de contaminantes fecales a través del cascarón, especialmente cuando dicha estructura está fisurada o demasiado sucia⁽¹²⁾, o bien porque el tracto reproductor del ave se encuentra infectado^(7,10).

Datos proporcionados por la Unión Nacional de Avicultores (UNA) especifican que México ocupa la sexta posición mundial en materia de producción de huevo, alcanzando una producción anual total de 2,100 millones de toneladas, con un valor superior a los 14,656 millones de pesos, siendo el consumo de 20.3 kilogramos de huevo (317 piezas aproximadamente) por habitante al año, ubicando a nuestro país entre los de mayor consumo de huevo en el mundo⁽¹³⁾. Aunque México ha sido declarado libre de *Salmonella pullorum* y existe el control de *Salmonella gallinarum*, en la producción avícola no se considera a otras salmonelas capaces de producir zoonosis como es el caso de SE^(14,15).

En un estudio realizado por Gutiérrez-Cogco *et al.*⁽¹⁶⁾, al analizar 24,394 cepas de *Salmonella* aisladas de diversas fuentes por los laboratorios de salud pública y privados de México entre 1972 y 1999, identificaron 199 serotipos, siendo el más frecuente *Salmonella* Typhimurium y en segundo lugar *Salmonella* Enteritidis, determinando que SE ha sido el serotipo más frecuentemente aislado desde 1991 hasta 1999.

Estudios previos sobre fagotipificación de SE en México, demostraron la existencia de los fagotipos

shell eggs, or undercooked egg products as the vehicle for the transmission of SE to consumers^(4,5,6).

SE infection in egg-laying hens and broiler chickens has important implications on public health worldwide^(7,8,9). Gast and Beard^(10,11) showed that in hens exposed to SE by either inoculation or horizontal contagion, the organism was recovered from the cloaca, eggs, ceca, liver, spleen, ovaries, and oviducts.

Epidemiologically speaking, the production of contaminated eggs is the most important outcome of SE infection in layers. SE egg contamination can result from the penetration of fecal bacteria through the eggshell, particularly when cracked or extremely dirty⁽¹²⁾, or by hen's reproductive tract infection^(7,10).

Mexico's Poultry Producers Union (*Unión Nacional de Avicultores, UNA*), reported that Mexico has world's number 6 position in terms of yearly egg production, with 2.1 billion metric tones, for a value exceeding MEX\$14.656 billion pesos (some US\$1.3 billion dollars). Domestic annual egg *per-capita* consumption is 20.3 kg (ca 317 eggs) – one of the highest in the world⁽¹³⁾. Mexico has been declared as a *Salmonella pullorum*-free country, and it is under *Salmonella gallinarum* control. Nevertheless, in the poultry industry no other salmonellae are considered as able to cause zoonosis, as it is the case of SE^(14,15).

Gutiérrez-Cogco *et al.*⁽¹⁶⁾ analyzed 24,394 salmonella isolates from different sources obtained by both public and private laboratories in Mexico between 1972 and 1999. One hundred ninety nine (199) serotypes were identified, the most frequent being *Salmonella typhimurium* followed by SE. Nevertheless, SE was the serotype isolated most frequently from 1991 to 1999.

Previous SE phage typing studies showed the presence phage types 4 and 8 in the Mexican poultry industry^(17,18). Starting in 1995, SE isolation/phage typing have been performed in different Mexican states. Even though several different phage types have been identified, phage type 4 has particularly prevailed^(19,20). Phage type 4 has also been

4 y 8 en la avicultura de nuestro país^(17,18). Desde 1995 se ha realizado el aislamiento y fagotipificación de SE en diferentes estados de la república, identificándose diferentes fagotipos y encontrando al fagotipo 4 como el de mayor número de aislamientos^(19,20), el cual ha sido también identificado a partir de cepas aisladas de humanos⁽²⁰⁾. Los avances en el estudio de SE en México, repercuten de manera importante en la salud pública, así como en la producción avícola nacional, ya que diferentes países del mundo aplican restricciones a la importación de aves y huevo de países que estén considerados como infectados⁽²¹⁾.

El presente estudio se realizó con la intención de determinar la presencia de *Salmonella* Enteritidis en el huevo para consumo público en la ciudad de México.

Se colectaron 400 huevos limpios y sin cascaduras, en mercados, tiendas de autoservicio y tiendas de abarrotes de diferentes zonas de la ciudad de México, sin considerar la fecha de postura ni la forma del almacenaje, buscando en todos los casos que pertenecieran a las 10 marcas comerciales seleccionadas (40 de cada una), consideradas como de venta más frecuente según datos de la Unión Nacional de Avicultores. El número de muestras se determinó con base a un análisis estadístico de Ji^2 , con un nivel de confianza del 95 %, un error estándar del 5 % y una prevalencia del 50 %, resultando un muestreo aleatorio de 384 muestras, que para fines prácticos se redondeó a 400 muestras⁽²²⁾. Los huevos se sembraron el mismo día de su adquisición, previa desinfección externa del cascarón con alcohol al 95 % y flameando la superficie. Las muestras de cascarón incluyendo las membranas, se sembraron tomando una extensión aproximada de 2.5 cm cuadrados, mientras que las de yema y clara se hicieron tomando 3 ml por medio de jeringas y agujas estériles.

Cada una de las muestras se sembró en 6 ml de caldo selenito e incubó por 24 h a 37 °C, para posteriormente ser sembradas en verde brillante y Mac Conkey, incubándolas también por 24 h a 37 °C⁽¹⁴⁾. Las colonias que se obtuvieron fueron identificadas hasta género utilizando las pruebas

identificadas en aislamientos humanos⁽²⁰⁾. Progress in the study of SE in Mexico has important public health/poultry industry repercussions, since several countries restrict poultry/egg imports from countries considered as infected⁽²¹⁾.

This research was performed in an attempt to determine the presence of SE in eggs for human consumption in Mexico City.

Four hundred (400) clean, non-cracked eggs were collected from markets, supermarkets, and smaller grocery stores located in different zones within Mexico City, regardless of the date of lay, or storage type. In all cases, eggs corresponding to the 10 selected brands (40 eggs per brand) were acquired. These brands are considered by UNA as sales top 10. The number of samples was determined on the basis of a χ^2 statistical study, with 95% confidence level, 5% standard error, and 50% prevalence, resulting in a random sample size of 384 eggs. For practical purposes, this was rounded up to 400 eggs⁽²²⁾. Eggs were bacteriologically cultured on the same day they were acquired. Egg shells were disinfected using 95% alcohol, surface flamed, then cultured. Egg shell samples (membranes included) were seeded, taking a surface area of approximately 2.5 squared centimeters. In addition, 3 ml of each yolk and white material per culture medium were obtained using sterile syringes and needles, then cultured.

Each sample was seeded in 6 ml selenite broth, incubated for 24 h at 37°C, then transferred to brilliant green and Mac Conkey culture media, and incubated for 24 h at 37 °C⁽¹⁴⁾. Colony genuses were identified using the biochemical tests recommended in conventional methods⁽²³⁾. The isolate identified as *Salmonella* sp. was serotyped using commercial somatic (O) and flagellar (H) antisera (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA), following the method recommended by the manufacturer⁽²⁴⁾. Somatic antisera included Poli A- I -Vi; group D1 factors 1,9,12; individual antisera for factors 9 and 12; and group D2 factor 46. Serotype-specific flagellar antisera included G Complex and individual factors m, q, s, and t.

bioquímicas recomendadas en las metodologías convencionales⁽²³⁾. A la cepa identificada como *Salmonella* sp. se le realizó la serotipificación con antisueros somáticos (O) y flagelares (H) comerciales (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA), siguiendo la metodología recomendada por el laboratorio productor⁽²⁴⁾. Los antisueros somáticos utilizados fueron: Poli A- I -Vi, grupo D1 factores 1,9,12, antisueros individuales de los factores 9 y 12, así como el factor 46 del grupo D2. Los antisueros flagelares específicos del serotipo fueron el Complejo G y los factores individuales m, q, s, t.

En la fagotipificación se utilizó un juego de diez bacteriófagos numerados del 1 al 10. Estos fueron obtenidos de la División de patógenos entéricos del laboratorio de Salud Pública de Londres, Reino Unido. La dilución de prueba (Routine Test Dilution) utilizada fue de 1:10,000 para el bacteriófago No. 7 y de 1:1,000 para los demás. La metodología de fagotipificación utilizada para SE fue la misma que se ha descrito con anterioridad^(17,25). En cada fase de prueba se utilizaron cepas de referencia como control.

De las 400 muestras tomadas se obtuvieron 131 aislamientos bacterianos, siendo 88 de yema (67 %), 26 de clara (20 %) y 17 de cascarón con membranas (13 %). En cuatro de las diferentes marcas de huevo muestreadas se obtuvieron aislamientos de yema, clara y cascarón, en tres de ellas se obtuvieron aislamientos sólo de yema, en dos marcas de yema y cascarón, y sólo en una de yema y clara.

El número de aislamientos por marca de huevo y tipo de muestra tomada se observan en el Cuadro 1. De estos aislamientos, 20 no pudieron ser identificados, mientras que los demás correspondieron a 12 géneros bacterianos con diferente frecuencia: *Branhamella* sp., *Salmonella* Enteritidis, *Serratia* sp. y *Staphylococcus* sp. en una ocasión; *Acinetobacter* sp., *Alcaligenes* sp. y *Edwardsiella* sp. en dos ocasiones; *Klebsiella* sp. en tres ocasiones; *Yersinia* sp. en cuatro ocasiones; *Shigella* sp. en cinco ocasiones; *Hafnia* sp. en once ocasiones y *Bacillus* sp. en 78 ocasiones.

A set of 10 bacteriophages numbered 1 to 10 was used for phage typing. Bacteriophages were obtained from the Enteric Pathogen Division, Public Health Laboratory, London, England. The Routine Test Dilution used was 1:10,000 for bacteriophage number 7, and 1:1,000 for all others. The methodology for SE phage typing had been previously described^(17,25). Control reference strains were used in each test phase.

From the 400 samples, 131 bacterial isolates were obtained (88 isolates [67 %] from egg yolks), 26 isolates [20%] from egg albumin], and 17 isolates [13%] from eggshells/eggshell membranes). Four of the 10 commercial egg brands yielded isolates from all three sample types (egg yolk, egg albumin, and eggshell). Three egg brands yielded isolates only from the yolk; two brands yielded isolates from both yolks and eggshells; and one branded yielded isolates from both egg yolk and egg whites.

The number of isolates per brand and sample type is shown in Table 1. Twenty of these isolates were not possibly identified while all others corresponded to 12 bacterial genres with different frequencies: *Branhamella* sp., *Salmonella* Enteritidis, *Serratia* sp. and *Staphylococcus* sp. in one occasion;

Cuadro 1. Número de aislamientos bacterianos obtenidos y clasificados por marca de huevo y tipo de muestra

Table 1. Per-egg-brand/per-sample-type numbers of bacterial isolates obtained/classified

Brand	Egg yolk	Egg albumin	Eggshell
No. 1	6	0	0
No. 2	13	10	5
No. 3	9	0	0
No. 4	13	0	2
No. 5	2	0	1
No. 6	10	8	6
No. 7	11	0	0
No. 8	6	3	1
No. 9	10	2	0
No. 10	8	3	2
Total	88	26	17

El número de aislamientos por género bacteriano y tipo de muestra tomada se observan en el Cuadro 2. Sólo se obtuvo un aislamiento de SE a partir de la yema de un huevo, la cual no manifestó lisis legible ante el juego de bacteriófagos utilizado en la metodología de fagotipificación, por lo que se clasificó como no tipificable. Las cepas control de referencia manifestaron correctamente la lisis correspondiente a cada fagotipo. El haber obtenido un solo aislamiento de SE en 400 huevos no manifiesta una significancia estadística, pero sí nos permite determinar un porcentaje de 0.25 %.

El aislamiento de SE obtenido en este trabajo confirma la presencia de esta bacteria en el huevo comercial de consumo humano en la ciudad de México, coincidiendo con los resultados obtenidos en Alemania⁽²⁶⁾, en Polonia⁽²⁷⁾, y por Coyle *et al.*⁽⁸⁾. Así mismo, estos resultados coinciden con lo informado por el Food Safety and Inspection Service y el Food and Drug Administration de los Estados Unidos de Norteamérica, en cuanto a la presencia de SE en este alimento de gran consumo por la población⁽²⁸⁾. Para México, uno de los países con más alto consumo de huevo en el mundo, el hallazgo de esta bacteria debe considerarse de interés epidemiológico para la salud pública nacional⁽¹³⁾. Por otra parte, no pareciera extraño el haber aislado SE de un alimento tan común en nuestro país, si se revisan los resultados encontrados por Gutiérrez-Cogco *et al.*⁽¹⁶⁾, quienes encontraron que SE ha sido el serotipo más frecuentemente aislado entre 1991 y 1999; así como los de Mancera *et al.*⁽¹⁷⁾ al determinar la presencia de SE en la producción avícola de México.

No obstante, trabajos realizados en diferentes partes del mundo al muestrear huevo para determinar la presencia de SE, han proporcionado resultados variables. En Alemania se aislaron 10 cepas de SE, de las cuales 5 fueron de yema, 3 de clara y 2 de cascarón⁽²⁶⁾; en cambio en Polonia en un muestreo de 400 huevos sólo se aisló una cepa de *Salmonella agona* de cascarón, pero en un segundo muestreo de 300 huevos se recuperaron tres cepas de SE de cascarón sin encontrarla en el contenido de ningún huevo⁽²⁷⁾; por otra parte en Turquía se aislaron 103 cepas bacterianas de las cuales ninguna fue *Salmonella*⁽²⁹⁾.

Acinetobacter sp., *Alcaligenes* sp. and *Edwardsiella* sp. in two occasions; *Klebsiella* sp. in three occasions; *Yersinia* sp. in four occasions; *Shigella* sp. in five occasions; *Hafnia* sp. in eleven occasions; and *Bacillus* sp. in 78 occasions.

Per-genus/per sample type numbers of isolates are shown in Table 2. Only one SE isolate was obtained from one egg yolk. This isolate did not express a readable lysis in the face of the bacteriophage set when the phage typing methodology was used. Therefore it was classified as non typeable. Reference strains expressed properly the lysis corresponding to each phage type. The fact of having obtained only one SE isolate in 400 eggs is not statistically significant, but numerically it does represent 0.25 % of all samples.

The SE isolate obtained in this research confirms the presence of this particular bacterium in commercial eggs for human consumption in Mexico City, matching the results from Germany⁽²⁶⁾, Poland⁽²⁷⁾, and Coyle *et al.*⁽⁸⁾. These results also agree with the US Food Safety and Inspection Service, and Food and Drug Administration (FSIS, FDA) information, regarding the presence of SE

Cuadro 2. Número de aislamientos bacterianos obtenidos y clasificados por género bacteriano y tipo de muestra

Table 2. Per-genus/per-sample type numbers of bacterial isolates obtained

Bacteria	Egg yolk	Egg albumin	Eggshell
<i>Acinetobacter</i> sp.	0	1	1
<i>Alcaligenes</i> sp.	0	0	2
<i>Bacillus</i> sp.	61	12	5
<i>Branhamella</i> sp.	0	1	0
<i>Edwardsiella</i> sp.	2	0	0
<i>Hafnia</i> sp.	7	3	1
<i>Klebsiella</i> sp.	3	0	0
<i>Salmonella</i> sp.	1	0	0
<i>Serratia</i> sp.	0	1	0
<i>Shigella</i> sp.	5	0	0
<i>Staphylococcus</i> sp.	0	1	0
<i>Yersinia</i> sp.	3	1	0

La ausencia de lisis bacteriana o no legible en el proceso de fagotipificación, clasificó al aislamiento de SE como no tipificable, considerando que esta falta de definición en la lisis, pudo deberse entre diferentes causas, a la posible contaminación del aislamiento con otro bacteriófago, el cual no se manifiesta a simple vista en el crecimiento bacteriano pero sí interfiere en la lisis de los bacteriófagos utilizados en la metodología de fagotipificación. Las cepas control manifestaron resultados correctos dentro del esquema de fagotipificación desarrollado para SE⁽²⁵⁾.

El aislamiento de SE de yema parece confirmar que este microorganismo infecta órganos reproductivos del ave y puede ser eliminado por el huevo, coincidiendo con los resultados obtenidos por Gast y Beard^(10,11), al infectar aves en forma experimental. Se considera poco probable que la bacteria llegara a la yema del huevo del exterior atravesando la clara y el cascarón, ya que de haber sido así se habría encontrado también en estos dos últimos. No obstante, para fines epidemiológicos en salud pública es aceptado que SE puede ser eliminada por vía transovárica, aceptándose también que el contenido del huevo puede contaminarse por la migración de la bacteria a través del cascarón contaminado desde el exterior, como es el caso de contaminación por heces del ave al estar infectada, y eliminar el germen por vía digestiva.

Datos proporcionados por el Departamento de Agricultura (USDA) de los Estados Unidos de Norteamérica, mencionan que solamente por la vía transovárica, se obtiene un huevo contaminado por SE de cada 10,000 producidos en ese país⁽²⁸⁾. Aunque en apariencia este dato puede considerarse como insignificante, al considerar su producción anual de huevo, se concluye que se producen 4.5 millones de huevos con SE que son consumidos por el público, insistiendo en que no se incluyen los huevos contaminados por heces fecales sino únicamente por infección del aparato reproductor. Los resultados obtenidos en nuestro estudio demuestran que un huevo (0.25 %) de los 400 muestreados contenía SE, dato que podría sugerir que en México 25 de cada 10,000 huevos estarían contaminados con este microorganismo, lo cual

in table eggs, a highly popular food⁽²⁸⁾. For Mexico –one of world’s highest egg-consuming countries– the finding of SE should attract epidemiological attention for nation’s public health⁽¹³⁾. On the other hand, the isolation of SE in such a common foodstuff in Mexico should not be surprising, if one checks the results obtained by Gutiérrez-Cogco *et al.*⁽¹⁶⁾, who reported SE as the most frequently isolated serotype between 1991 and 1999; as well as those published by Mancera *et al.*⁽¹⁷⁾, who detected the presence of SE in the Mexican poultry industry.

The attempts to isolate SE from eggs in different parts of the world, have yielded variable results. In Germany, 10 SE strains were isolated: 5 from egg yolks, 3 from egg whites, and 2 from eggshells⁽²⁶⁾; In contrast, only one *Salmonella agona* strain was isolated in Poland from an eggshell out of 400 eggs sampled. Nevertheless, in a second research phase, three SE strains were isolated from eggshells and none from egg content samples out of 300 eggs sampled⁽²⁷⁾. In Turkey, 103 non-*Salmonella* bacterial isolates were obtained⁽²⁹⁾.

The absence of bacterial lysis (non legible lysis) during the phage typing process classified our SE isolate as a non typeable one. This lack of lysis definition could have been due –among other causes– to possible contamination of the isolate with a different bacteriophage that might not express itself grossly on bacterial growth, but that might interfere with the lysing activity of the bacteriophages used for phage typing. In our study, reference (control) strains yielded appropriate results within the phage typing scheme developed for SE⁽²⁵⁾.

The isolation of SE from egg yolks seems to confirm that this organism infects birds’ reproductive organs, and that it can be transmitted through the egg. This agrees with the results published by Gast and Beard^(10,11), who reproduced the infection experimentally. We think that bacterial penetration to the yolk from the outer environment through the eggshell and albumin is unlikely, since in such case the bacterium should have been found also in these two other egg sites. Nevertheless, for epidemiological/public health purposes, it is

parece de consideración al recordar que nuestro país produce dos mil cien millones de toneladas de huevo al año.

Los programas en el control de esta infección y las medidas restrictivas comerciales en el intercambio de productos avícolas adoptadas por diferentes países, como es el caso de los Estados Unidos de Norteamérica, son de suma importancia para nuestro país, ya que restringe la comercialización de estos productos con países considerados como infectados por SE^(21,30).

En el trabajo se puede observar que en algunas de las marcas de huevo muestreadas, se obtuvo un mayor número de aislamientos bacterianos que en otras, lo cual puede atribuirse a diferentes causas: manejo inadecuado del huevo recién puesto y su contaminación con bacterias del medio ambiente, el tiempo y temperatura de almacenaje, el manejo del distribuidor y expendedor del producto, debiendo considerar también la posible falta de sanidad animal en las granjas de ponedoras⁽³¹⁾. En este trabajo no fue posible determinar si una o todas de las causas mencionadas, estuvieron presentes, ya que el objetivo fue muestrear huevo que adquiere directamente el consumidor en la ciudad de México.

Llama especialmente la atención el haber obtenido el aislamiento de 11 géneros bacterianos además de SE, algunos de ellos de tipo saprofito presentes en el medio ambiente y considerados como microflora normal en los animales, pero otras de posible carácter patógeno para las diferentes especies animales y especialmente para el humano⁽²³⁾. En este estudio no se identificaron las especies de estos aislamientos, por no estar contemplado en los objetivos del trabajo. Por otra parte, los aislamientos obtenidos de varios géneros bacterianos, deben hacernos reflexionar sobre la inocuidad de los alimentos que son consumidos por la población, ya que al igual que SE los otros microorganismos, también pueden llegar a representar un alto riesgo para la salud pública.

Se concluye que de 400 huevos muestreados se aisló una cepa de *Salmonella* Enteritidis de yema de huevo para consumo humano, pero además se

accepted that SE can be spread by the trans-ovarian route. It is also well accepted what the egg can be contaminated by bacterial migration from the outside and through the eggshell, as it occurs in the case of contamination with the feces from infected birds shedding the organism through the digestive tract.

Data provided by the US Department of Agriculture (USDA) show that one SE-contaminated egg can be obtained by the trans-ovarian route out of each 10,000 eggs produced in the US. Even though this figure could apparently be considered as negligible, we must remember that the US is producing 4.5 million SE-contaminated eggs. These eggs are actually consumed by the public. Also, we must emphasize that this figure does not include eggs contaminated by feces but only those contaminated via the reproductive tract. Our results show that one out of the 400 eggs sampled (0.25 %) contained SE. This would suggest that in Mexico 25 out of each 10,000 eggs are contaminated with this organism, and this could be important if we remember that Mexico produces 2.1 billion metric tones of eggs per year.

SE infection control programs and trade restrictive measures imposed on poultry products by different countries –as it is the case of the US– are extremely important for Mexico, since the US restricts the trade of these products from countries considered as SE infected ^(21, 30).

In our research, some commercial egg brands yielded higher numbers of bacterial isolates than others. This can be attributed to different causes: poor management of freshly-laid eggs resulting in contamination with environmental bacteria; storage time/temperature; egg distributor/egg retailer management practices; and even the possibility of poor animal health in layer farms⁽³¹⁾. We could not determine whether any of these causes played a role, since the purpose of our study was sampling the eggs acquired directly by consumers in Mexico City.

Having isolated 11 different bacterial genres in addition of SE is particularly interesting. Some of these bacteria are environmental saprophytes, and

encontraron 11 géneros bacterianos contaminantes que pueden llegar a representar un riesgo en la salud pública. Es un hecho comprobado, que el mantener este alimento a temperatura ambiente favorece la proliferación de las bacterias existentes en su interior, ya sean patógenas o no, pero que causan detrimento en la calidad del huevo y son un riesgo en la salud del consumidor. Este hecho sugiere la conveniencia de buscar establecer una cadena de refrigeración en el transporte, almacenaje y comercialización de este producto, como se lleva al cabo en otros países, con la intención de evitar la proliferación de microorganismos contaminantes.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado parcialmente por el proyecto CONACYT 25900- B.

LITERATURA CITADA

1. Gast RK. Aplicación de modelos experimentales para comprender y detectar las infecciones por *Salmonella enteritidis* en pollos. Curso de actualización sobre el control y prevención de la infección por *Salmonella enteritidis*. México. 1994:1-7.
2. Bleem A. The *Salmonella enteritidis* situation in the United States. *Animal Health Insight*. USDA: APHIS: VS: 15. USA. 1991.
3. Rodrigue DC, Tauxe RV, Rowe B. International increase in *Salmonella enteritidis*: A new pandemic. *Epidemiol Infect* 1990;(105):21-27.
4. Telzak EE, Budnick LD, Zweig-Greenberg MS, Blum S, Shayegani M, Benson CE, *et al.* A nosocomial outbreak of *Salmonella enteritidis* infection due to the consumption of raw eggs. *N Engl J Med* 1990;323(6):394-397.
5. CDC. Outbreaks of *Salmonella* serotype Enteritidis infection associated with consumption of raw shell eggs United States. 1994-1995. *MMWR* 1996;(45):737-742.
6. Hennessy T. A national outbreak of *Salmonella* Enteritidis infections from ice cream. *N E J Med* 1996;(334):1281-1286.
7. Humphrey TJ. Infección por *Salmonella enteritidis* en pollos y gallinas de postura. Curso de actualización sobre *Salmonella enteritidis* y *Campylobacter* en las aves domésticas. México. 1991:20-26.
8. Coyle EF, Ribeiro CD, Howard AJ, Palmer SR, Jones HI, Ward L, *et al.* *Salmonella enteritidis* phage type 4 infection: Association with hens' eggs. *Lancet* 1988;(2):1295-1297.
9. Carramiña JJ, Agustín AI, Yanguela J, Blanco D, Rota C, Herrera A. Caracterización serológica de cepas de *Salmonella* aisladas a partir de diferentes muestras en mataderos de aves.

they are considered as normal animal microflora members. Nevertheless, other can possibly be pathogenic for different animal species, particularly for humans (23). The species of these isolates were not identified, since this was beyond the purpose of this research. On the other hand, having isolated several different bacterial genres should be a cause of food safety concern, since similar to SE, the other organisms can also represent important public health hazard factors.

It is concluded that one SE strain was isolated from one egg yolk for human consumption, in addition to other 11 bacterial genres that can represent risk factors for public health. It has been proven elsewhere that maintaining eggs at room temperature promotes the proliferation of pathogenic and non-pathogenic bacteria present inside the egg, that these bacteria are deleterious for egg quality, and they are hazardous for consumers' health. This fact suggests the importance of establishing a refrigeration chain throughout egg transportation, storage and commercialization, as practiced in other countries in an attempt to prevent the proliferation of contaminating organisms.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was partially funded by Mexico's National Science/Technology Council, CONACYT's project number 25900- B.

End of english version

-
- IV Reunión de la Sección Regional de Aragón Rioja y Soria. Sociedad Española de Microbiología, Hospital de Alcañiz. 1992:151-161.
 10. Gast RK, Beard CW. Production of *Salmonella enteritidis* contaminated eggs by experimentally infected hens. *Avian Dis* 1990;(34):438-446.
 11. Gast RK, Beard CW. Isolation of *Salmonella enteritidis* from internal organs of experimentally infected hens. *Avian Dis* 1990;(34):991-993.
 12. López J, Karpowicz E, Becker S. Penetración de *Salmonella enteritidis* en huevos clasificados intactos, sin llegar al contenido del huevo. Curso de Actualización sobre *Salmonella enteritidis* y *Campylobacter* en las aves domésticas. México. 1991:97-103.

Salmonella Enteritidis EN HUEVO PARA CONSUMO

13. UNA. Unión Nacional de Avicultores de la República Mexicana. Datos de la producción avícola en publicación divulgativa. Julio 19 de 2002.
14. SARH. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Norma Oficial Mexicana NOM-005-ZOO-1993. Campaña Nacional contra la Salmonelosis Aviar. Diario Oficial, México. Septiembre de 1994.
15. SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Acuerdo mediante el cual se declara libre de salmonelosis aviar causada por *Salmonella pullorum*, el territorio de los Estados Unidos Mexicanos. Diario Oficial 51, México. Mayo 17 de 2002.
16. Gutiérrez-Cogco L, Montiel-Vázquez E, Aguilera-Pérez P, González-Andrade MC. Serotipos de Salmonella identificados en los servicios de salud de México. Salud Pública de México 2000;42(6):490-495.
17. Mancera MA, Vázquez NJ, Heneidi ZA. Fagotipificación de aislamientos de *Salmonella enteritidis* obtenidos de aves en México. Téc Pecu Méx 2004;42(2):287-294.
18. Ontiveros CL, Mancera MA, Vázquez NJ, Tenorio GV. Determinación de la existencia de plásmidos en aislamientos de *Salmonella enteritidis* (fagotipos 4 y 8) y su análisis en la resistencia antimicrobiana. Téc Pecu Méx 2004;42(3):325-332.
19. Mancera MA, Vázquez NJ, Ontiveros CL, Valladares J, Tenorio GV. Identificación de fagotipos de *Salmonella enteritidis* en aves comerciales de México. XV Congreso Latinoamericano de Avicultura. Cancún, Q. Roo. 1997:139.
20. Mancera MA, Vázquez NJ, Ontiveros CL, Tenorio GV. Resultados de la fagotipificación de *Salmonella enteritidis* en el INIFAP de 1994 al 2000. 2º Congreso Internacional de Epidemiología. Veracruz, Veracruz. 2001:113-116.
21. USDA-APHIS. United States Department of Agriculture- Animal and plant health inspection service. Importation of animals and animal products; Proposed rule. 9 CFR Part 92, et al. USA. 1996.
22. Cannon RM, Roe RT. Livestock disease surveys: A field manual for veterinarians. Canberra: Australian Government Publishing Service; 1982.
23. Mac Faddin JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. México: Médica Panamericana; 1990.
24. Difco Laboratories. Serological identification of *Salmonella*. Technical Information 1229. Detroit, Michigan, USA:1997.
25. Ward LR, de Sa JDH, Rowe B. A phage-typing scheme for *Salmonella enteritidis*. Epidemiol Infect 1987;(99):291-294.
26. Buchner L, Wermter R, Henkel S. *Salmonella enteritidis* in eggs of fowls. Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift 1991;104(5):157-161.
27. Radkowski M. Occurrence of *Salmonella* sp. in hen eggs. Medycyna Weterynaryjna 1990;46(9):331-333.
28. USDA-FSIS. United States Department of Agriculture- Food safety and inspection service. *Salmonella enteritidis* in eggs: Advance notice of proposed rulemaking. 7 CFR Part 59. Department of health and human services. Food and drug administration. 21 CFR Part 100. USA. 1998.
29. Inal U, Ozyer M. Tavuk yumurtalarından *Salmonella* izolasyonu qalismalari. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi. Turkey. 1992.
30. Clinton W. Clinton administration announces ambitious new plan to improve egg safety, reduce Salmonella illnesses. Weekly radio address. USDA, FDA. USA. December 11, 1999.
31. Anderson KE. Refrigeration and removal of heat from eggs. Misset-World Poultry 1993;(9):11.

