
MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS

**PROGRAMA DE
VIGILANCIA Y CONTROL
DE LA CONTAMINACIÓN
POR SALMONELLA SPP.
EN GRANJAS AVÍCOLAS
COMERCIALES**
RESOLUCIÓN SENASA N° 86/2016

AÑO 2018

Programa de Sanidad Aviar
Dirección Nacional de Sanidad Animal

ÍNDICE

Introducción	2
Objetivos.....	2
Responsabilidades	2
Veterinario responsable sanitario del establecimiento.....	2
Laboratorio adherido / Director técnico.....	3
Veterinario de la Oficina Local del Senasa.....	5
Programa de Sanidad Aviar.....	5
Actividades en granjas de pollo de engorde	6
1. Frecuencia de toma de muestra	6
2. Indicaciones.....	6
3. Método de muestreo.....	6
Actividades en granjas de gallinas de postura.....	9
1. Frecuencia de toma de muestra	9
2. Indicaciones.....	9
3. Método de muestreo.....	9
Medidas a adoptar ante una granja positiva	12
Links Senasa	14
Flujograma.....	15
Marcha Bacteriológica	16

Introducción

El presente Manual de Procedimientos contiene los principios básicos técnicos y operativos del “Programa de vigilancia y control de la contaminación por *Salmonella* spp. en granjas avícolas comerciales” establecido por la Resolución Senasa N° 86 del 4 de marzo de 2016, es de aplicación en forma obligatoria en todas las granjas de pollos parrilleros y granjas de gallinas de posturas comerciales del país.

El presente manual está dirigido a los veterinarios responsables sanitarios avícolas, a los responsables técnicos de los laboratorios adheridos y a los veterinarios de las oficinas locales del Senasa.

Objetivos

Controlar y disminuir la presencia de *Salmonella* ser. Enteritidis, *Salmonella*. ser. Typhimurium y *Salmonella*. ser. Heidelberg en el ambiente de establecimientos avícolas de pollos de engorde y gallinas de postura comerciales, mitigando la contaminación del producto avícola final, con estos gérmenes que ponen en riesgo la Salud Pública.

Responsabilidades

Veterinario responsable sanitario del establecimiento

Cada granja avícola deberá contar con un profesional veterinario como responsable sanitario ante el Programa de Sanidad Aviar, que será el encargado de la implementación del presente programa en la granja a su cargo.

Por consiguiente debe:

- a. Tomar la muestra del establecimiento.
- b. Remitir la muestra al laboratorio adherido al Programa de Sanidad Aviar (Se adjunta link de la lista de laboratorios adheridos en la página 14).
- c. Enviar la planilla de resultados a la oficina local del Senasa correspondiente a la jurisdicción del establecimiento, proporcionada por el laboratorio adherido. La

misma debe estar firmada por el Director técnico. (Se adjunta link de planilla de informe de resultados pág. 14)

- d. Ante la presencia de Salmonella ser. Enteritidis, S. ser. Typhimurium y S. ser. Heidelberg, deberá contactarse en forma inmediata con el veterinario de la oficina local correspondiente a su zona.
- e. Implementar las medidas necesarias para la eliminación del agente en cuestión.
- f. Realizar un descargo por escrito de las medidas adoptadas en el establecimiento afectado y presentarlas en la oficina local.

Laboratorio adherido / Director técnico

- a. El laboratorio adherido debe poseer Director Técnico con Título habilitante.
- b. Contar con un libro de actas foliado donde deberá registrar la totalidad de las muestras que ingresan. Deberán constar los siguientes datos: fecha de ingreso y N° de Protocolo interno/n° de acta, RENSPA, procedencia, fecha de toma de muestra, tipo, cantidad de muestra, pruebas a realizar, resultados, fecha del mismo y fecha y firma del responsable que retira el resultado.
- c. Utilizar el método descrito en el Anexo D de la Norma ISO 6579 (2002), para “Detección de Salmonella spp. en heces de animales y en muestras a nivel de producción primaria”. Como medio selectivo se utiliza el medio semisólido Rappaport-Vassiliadis modificado (MSRV) o caldo Rappaport Vassiliadis (opcional) (Ver flujograma pág. 15)
- d. Serotipificación: se debe proceder a la serotipificación de 1 (UNA) cepa de cada muestra positiva como mínimo, siguiendo el esquema de White-Kaufmann-Le Minor. Como métodos alternativos se pueden utilizar las pruebas moleculares para identificación de genotipos.

Cada laboratorio debe hacer la tipificación serológica (pruebas de aglutinación) utilizando los sueros polivalentes OS-A y OS-B y luego realizar la serotipificación para el hallazgo de los serovares Enteritidis, Typhimurium y Heidelberg pertenecen a ese serogrupo.

- e. Cuando los laboratorios no estén en condiciones de realizar las pruebas de tipificación serológica o por técnicas moleculares, deben remitir la cepa aislada de *Salmonella* a la Dirección del Laboratorio Animal (Dilab), perteneciente a la Dirección General de Laboratorios y Control Técnico del Senasa. Talcahuano 1660 Martínez, Buenos Aires.

Previo al envío, se debe informar a mesa de entradas vía electrónica: mesalabadm@senasa.gob.ar con copia a maherrera@senasa.gob.ar o comunicarse por cualquier consulta a los siguientes teléfonos, (011) 4874-6702/03 en el horario de 8 a 15 hs. La muestra debe ser remitida con el protocolo "AVES- Tipificación de *Salmonella* spp". (Se adjunta link de protocolo de tipificación en la página 14).

- f. Una vez concluidas las pruebas diagnósticas, los resultados serán remitidos en el formulario de resultados, debe estar firmada por el director técnico (se adjunta link de planilla de resultados en la página 14) a la oficina local, ya sea por el veterinario del establecimiento, propietario o responsable técnico del laboratorio.
- g. Ante un hallazgo positivo de algunas de las *Salmonellas* solicitadas por la Resolución N°86/2016 por el laboratorio adherido, deben informar al veterinario responsable de la granja y éste comunicar en forma inmediata al veterinario de la oficina local cercana al establecimiento.
- h. Conservación de las cepas: cuando el laboratorio adherido tenga la capacidad de serotipificar, debe conservar las cepas aisladas por un período no menor a UN (1) año, para estudios posteriores de fago tipificación; pruebas de sensibilidad antimicrobiana u otras.
- i. Debe presentar al Programa de Sanidad Aviar, de manera anual, un informe de los diferentes serotipos aislados. El cual debe detallar número de RENSPA, nombre del titular, fecha de aislamiento y bacteria aislada.

Veterinario de la Oficina Local del Senasa

Los profesionales con asiento en las oficinas locales deben:

- a. Recibir del veterinario responsable del establecimiento, del propietario de la granja avícola o del responsable técnico del laboratorio, las copias del formulario de resultados. Las mismas deben estar firmadas por el Director técnico. (Se adjunta link de formulario de resultados en la página 14)
- b. Cargar dicho informe en el Sistema Integrado de Gestión de Sanidad Animal (Sigsa), como antecedente sanitario, los cuales figuran como:
 - MUESTREO DE *SALMONELLA* SPP. EN AVES - PRODUCCION DE CARNE
 - MUESTREO DE *SALMONELLA* SPP. EN AVES - PRODUCCION DE HUEVO
- c. Será el encargado de actuar e informar al Programa de Sanidad Aviar ante la comunicación de los hallazgos positivos de *Salmonella* ser. Enteritidis, *S. ser. Typhimurium* y/o *S. ser. Heidelberg* (Ver página 12: Medidas a adoptar ante una granja positiva).

Programa de Sanidad Aviar

- a. Cuando la Dilab confirme la serotipificación de la bacteria debe informar a la Oficina Local para su posterior prosecución.
- b. El Programa es el responsable del control de gestión, seguimiento del desarrollo y, particularmente, de la planificación de las inspecciones destinadas a constatar los resultados obtenidos.

Actividades en granjas de pollo de engorde

1. Frecuencia de toma de muestra

En las granjas de pollos parrilleros se debe realizar la toma de muestra con una frecuencia de 1 (UNA) vez por año.

2. Indicaciones

Los resultados deben estar antes del ingreso del próximo lote, las mismas deberán muestrearse dentro de las 3 (TRES) semanas previas a la faena.

3. Método de muestreo

3.1 Cantidad de muestra

Cuando la granja disponga de 5 (CINCO) o más galpones, deben extraerse muestras de 2 (DOS) galpones y en las granjas de menos de 5 (CINCO) galpones, la muestra debe tomarse de 1 (UN) galpón.

3.2 Materiales a utilizar

- ✓ Guantes desechables,
- ✓ Calcetines/calzas estériles,
- ✓ Sachet de 250 ml de solución fisiológica estéril al 0,9%,
- ✓ Bolsa contenedora estéril (bolsa tipo “stomacher”),
- ✓ Conservadora,
- ✓ Material para refrigeración.
- ✓ Otros: tijera, cinta adhesiva ancha (cinta de embalar), marcador indeleble, protocolos, etc.

3.3 Procedimiento de muestreo

La muestra estará constituida por DOS (2) pares de calcetines por galpón. Los pasos a seguir son:

1º. Colocarse guantes desechables de un solo uso previa manipulación del material.

2º. Colocarse un cubre calzado al bajar del vehículo e ingresar a la granja.

3º. Primer par de calcetines: una vez en la entrada del galpón, y antes de colocárselos, humedecerlos utilizando aproximadamente 100 ml de solución fisiológica estéril al 0,9%, vertiendo la solución diluyente dentro de la bolsa individual que contiene cada par de calcetines. Una vez humedecidos, colocárselos sobre el cubre calzado. Este último par de calcetines será el que contendrá la muestra.

4º. Dividir la superficie del galpón en dos secciones (Figura 1), caminar dentro de cada sector para dar como mínimo 100 pasos por cada par de calzas (100 pasos ~ 50 metros lineales). Asegurarse de que todas las partes del sector son muestreadas. Cada par debe abarcar aproximadamente el 50 % del área del galpón.

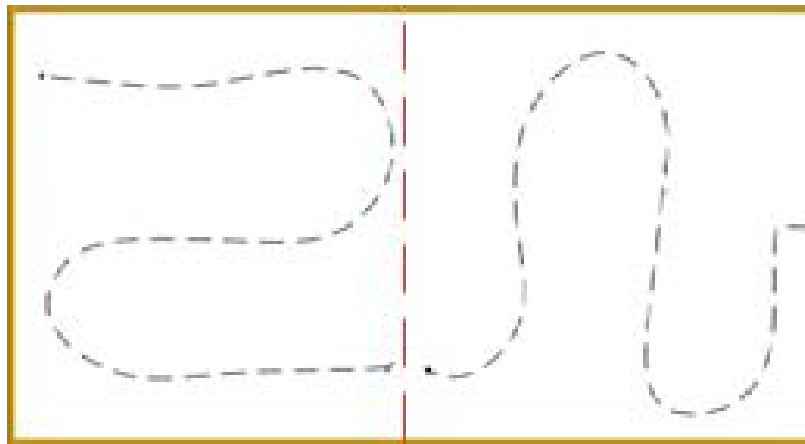


Figura 1

5º. Una vez finalizado el primer sector del galpón, quitarse los calcetines externos cuidadosamente para que no se desprenda el material adherido (se podrá dar la vuelta a los calcetines para retener el material en su interior) e introducirlos dentro de la bolsa estéril.

6º. Proceder con el segundo par de calcetines, repetir el punto 3º y hacer lo mismo en la otra mitad del galpón para luego seguir con el punto 5º.

7°. Los dos pares de calzas serán colocados en la misma bolsa (enviadas mezcladas como una sola muestra), la cual deberá cerrarse con una cinta ancha (preferiblemente cinta de embalar).

8°. Los calcetines colocados en la bolsa, cerrada y etiquetada convenientemente deberán conservarse en todo momento a temperatura de refrigeración y enviarse refrigeradas al laboratorio dentro de las 24 horas de tomada la muestra, utilizando el protocolo de muestreo (se adjunta link de protocolo en la página 14).

NOTA: Los dos pares de calcetines correspondientes a un galpón, se analizarán como única muestra, por lo tanto se realizará **1 (UNA) marcha bacteriológica**.

1 galpón = 2 pares de calcetines = 1 marcha bacteriológica

2 galpones = 4 pares de calcetines = 2 marchas bacteriológicas

Actividades en granjas de gallinas de postura

1. Frecuencia de toma de muestra

En las granjas de gallinas de postura se debe realizar la toma de muestra con una frecuencia de 2 (DOS) veces por año.

2. Indicaciones

Se debe muestrear aves que se encuentran dentro de las siguientes etapas:

- ✓ Aves de 18-27 semanas (comienzo de la postura).
- ✓ Aves de 70-86 semanas (con un máximo de NUEVE (9) semanas previas al envío a faena).
- ✓ Aves replumadas en postura, preferentemente a partir de la 5ta. semana de producción.

3. Método de muestreo

3.1 Cantidad de muestra

Cuando la granja disponga de 5 (CINCO) o más galpones, deben extraerse muestras de 2 (DOS) galpones y en las granjas de menos de 5 (CINCO) galpones, la muestra debe tomarse de 1 (UN) galpón.

3.2 Materiales a utilizar

- ✓ Guantes desechables,
- ✓ Frascos de plástico con tapa a rosca de un mínimo de 250 cc,
- ✓ Cuchara plástica de primer uso
- ✓ Conservadora,
- ✓ Material para refrigeración.
- ✓ Otros: tijera, cinta adhesiva ancha (cinta de embalar), marcador indeleble protocolos, etc.

3.3 Procedimiento de muestreo

3.3.1 En galpones tradicionales

Será preciso recoger una mezcla de materia fecal de la fosa. La muestra debe estar constituida por 2 (DOS) muestras de 150 gramos de materia fecal fresca cada una (utilizar dos frascos de 250 cc). La materia fecal se deberá recolectar en forma aleatoria de 60 lugares diferentes de las fosas. Es decir, de cada sitio seleccionado recolectar aproximadamente 2,5 gr. de materia fecal fresca (1/2 cucharadita). La distribución de las muestras debe ser representativa de todo el galpón.

Tener en cuenta que algunos granjeros podrían llegar a colocar cal viva sobre la materia fecal, en este caso, seleccionar los galpones que no fueran sometidos a ese tratamiento o bien solicitar no realizar el tratamiento por al menos 15 a 20 días y regresar posteriormente para la toma muestra en otro período.

NOTA: Se debe procesar por separado cada muestra de 150 gr de materia fecal, por lo tanto se realizarán **2 (DOS) marchas bacteriológicas.**

1 galpón = 2 muestras de materia fecal = 2 marchas bacteriológicas

2 galpones = 4 muestras de materia fecal = 4 marchas bacteriológicas.

Aclaración: Cuando se trate de gallinas ponedoras a piso se debe tomar la muestra de la misma manera que en granjas de pollo de engorde (ver pág. 6)

3.3.2 En galpones automáticos

En estos galpones se utilizan cintas que recogen el guano de jaulas, que se ponen en funcionamiento a intervalos regulares y descargan en un sistema transportador, por lo tanto, el día del muestreo se debe solicitar al granjero que ponga en funcionamiento las cintas de evacuación del guano o los raspadores temprano, y que no limpie el polvo de las cintas porta huevos ni de debajo de las jaulas antes de que haya tenido lugar el muestreo.

Con guantes descartables nuevos, se debe tomar 2 (DOS) muestras constituidas por 150 gr. de materia fecal fresca de 60 lugares diferentes de las cintas

transportadoras, de manera que todos los bloques estén representados en la muestra.

Se debe complementar con una muestra de 150 g de polvo seco tomadas de al menos 20 lugares de las diferentes instalaciones del galpón. Determine con el encargado o propietario de la granja los mejores lugares del galpón para recoger el polvo. Normalmente son las rejillas de los ventiladores de extracción, los salientes adyacentes, vigas, divisorias o tuberías o cintas transportadoras de huevos. Si es posible es preferible tomar polvo de las partes bajas. Solamente recolecte polvo seco.

Los frascos deben ser colocados en una bolsa, cerrada y etiquetada, luego colocarse en una conservadora, estando en todo momento a temperatura de refrigeración y deberá remitirse al laboratorio dentro de las 24 horas de tomada la muestra, utilizando el protocolo de referencia de remisión de muestras adjunto (Se adjunta link del modelo de protocolo de referencia página 14)

NOTA: Se debe procesar por separado cada muestra de 150 gr de materia fecal, y una muestra de 150 g de polvo seco, por lo tanto se realizarán **3 (TRES) marchas bacteriológicas.**

1 galpón = 2 muestras de materia fecal + 1 muestra de polvo seco = 3 marchas bacteriológicas

2 galpones = 4 muestras de materia fecal + 2 muestras de polvo seco = 6 marchas bacteriológicas

Medidas a adoptar ante una granja positiva

Se considera granja positiva cuando se detecte la presencia de *Salmonella* ser. Enteritidis, S. ser. Typhimurium y/o S. ser. Heidelberg (distintas de las cepas vacunales) en el ambiente.

En este caso, el veterinario responsable del establecimiento, el responsable técnico del laboratorio, o bien, el Programa de Sanidad Aviar, comunicarán inmediatamente al veterinario oficial local con jurisdicción en el establecimiento en cuestión.

En las granjas de Pollo de engorde el veterinario del Senasa debe:

1. Informar al Programa de Sanidad Aviar
2. Dar de baja la autogestión del establecimiento, permitir la faena del lote (en caso de estar en granja) y no permitir el ingreso del próximo lote.
3. Debe solicitar un descargo por parte del responsable veterinario del establecimiento de las medidas que implementará para solucionar dicha contaminación.
4. Debe inspeccionar la granja, a fin de identificar las medidas que considere insuficientes y/o deficientes e instruirá sobre las medidas de bioseguridad, control de plagas y buenas prácticas que deban adoptarse (Acta de constatación y Planilla de inspección a predios avícolas).
5. Corroborar el cumplimiento de las medidas dispuestas (Acta de constatación y Planilla de inspección a predios avícolas), permitir el ingreso de aves y dar de alta la autogestión, en caso de considerarlo pertinente.
6. Enviar la información al Programa de Sanidad Aviar vía mail: avesygranja@senasa.gob.ar, para cerrar el caso.

En las granjas de granjas de gallinas de huevos para consumo el veterinario del Senasa debe:

1. Informar al Programa de Sanidad Aviar
2. Debe solicitar un descargo por parte del responsable veterinario de las medidas que implementará para solucionar dicha contaminación ambiental.
3. Inspeccionar la granja, a fin de identificar las medidas que considere insuficientes y/o deficientes e instruirá sobre las medidas de bioseguridad, control de plagas y buenas prácticas que deban adoptarse (Acta de constatación y Planilla de inspección a predios avícolas).
4. Corroborar el cumplimiento de las medidas dispuestas (Acta de constatación y Planilla de inspección a predios avícolas)
5. Las medidas implementadas pueden ser respaldadas con el uso de vacunas vivas y/o inactivadas contra S. Gallinarum y/o S. Enteritidis u otra serovariedad oportunamente aprobadas por el Senasa, a fin de alcanzar una reducción efectiva en la diseminación de Salmonellas y/o inhibición de su crecimiento en huevos.
6. Enviar la información al Programa de Sanidad Aviar vía mail: avesygranja@senasa.gob.ar, para cerrar el caso.

Links Senasa

Listado de laboratorios adheridos al PNSA

<http://www.senasa.gob.ar/cadena-animal/aves/produccion-primaria/sanidad-animal>

Resolución Senasa N° 86/2016

<http://www.Senasa.gob.ar/normativas/resolucion-86-2016-ministerio-de-agroindustria>

Protocolo de remisión de muestras de aves de la Res. N° 86/2016

http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/ANIMAL/AVES/PROD_PRIMARIA/SANIDAD_ANIMAL/MANUALES/2.protocolo_de_remision_muestras_para_salmonella_en_granjas.pdf

Protocolo para la tipificación de Salmonella spp.

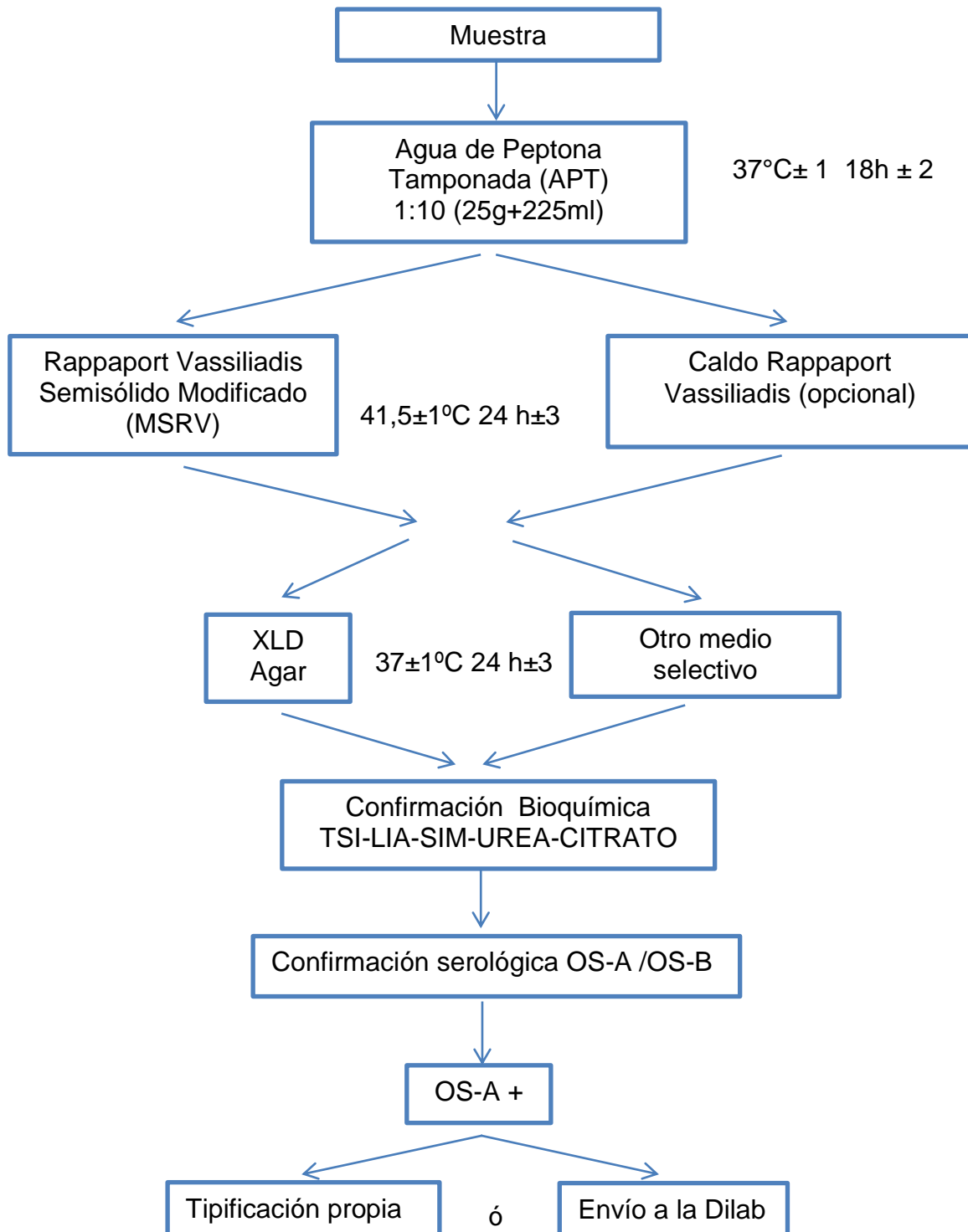
http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/ANIMAL/AVES/PROD_PRIMARIA/SANIDAD_ANIMAL/MANUALES/3._protocolo_tipificacion_salmonella_movil.pdf

Planilla de informes de resultados de la Res. N° 86/2016

http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/ANIMAL/AVES/PROD_PRIMARIA/SANIDAD_ANIMAL/MANUALES/4._planilla_de_informe_de_resultados_para_salmonella_para_pc.pdf

Flujograma

Método de detección de Salmonella spp. según Norma ISO 6579(2002)



Marcha Bacteriológica

Cuatro etapas sucesivas:

- 1) Pre enriquecimiento
- 2) Enriquecimiento selectivo
- 3) Siembra en placa e Identificación
- 4) Confirmación de Identidad

1) Pre enriquecimiento en medio líquido no selectivo

El medio de pre enriquecimiento líquido no selectivo que se debe utilizar es Agua de Peptona Tamponada (APT) a temperatura ambiente, se añade en una proporción de **1:10** (25g +225ml), se mezcla bien y se incuba a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante $18 \pm 2\text{h}$.

Este paso es de gran importancia en la recuperación de *Salmonella* spp. debido a que recupera números bajos o salmonellas lesionadas. Asimismo mantiene el pH favoreciendo el crecimiento de *Salmonella*.

2) Enriquecimiento selectivo

El medio de enriquecimiento selectivo semisólido que se debe utilizar es el Rappaport Vassiliadis Semisólido Modificado (MSRV), se inoculan 3 gotas de los cultivos de APT a una temperatura de $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ durante $24 \pm 3\text{h}$, lectura de 24h o en su defecto caldo Rappaport Vassiliadis, dilución **1:10**, a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ durante $24 \pm 3\text{h}$.

3) Siembra en placa e Identificación

Se debe usar dos medios selectivos sólidos:

De forma obligatoria debe utilizarse Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) y como segundo medio selectivo sólido se recomienda SS o Agar MacConkey o medio de cultivo cromogénico

Equilibrar placas a T° ambiente y sembrar a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante $24 \pm 3\text{h}$.

4) Confirmación

Se debe seleccionar las colonias sospechosas para su posterior confirmación. Tomar al menos 5 colonias sospechosas de cada uno de los medios sólidos selectivos.

Cuando las colonias no estén bien aisladas o son sospechosas se recomienda reaislar las colonias en agar nutritivo antes de la confirmación.

Utilizar 5 (cinco) pruebas bioquímicas a saber: TSI-LIA-SIM-UREA-CITRATO e incubarlas $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 h y proceder a su lectura.

Realizar la confirmación serológica mediante la utilización de sueros somáticos OSA y OSB o mediante sueros polivalentes pertenecientes al género *Salmonella* spp.

Antes de realizar el serotipado se debe comprobar que no sea cepa Autoaglutinable usando con solución Cloruro Sódico (NaCl 0.85%).

En caso de no realizar la serotipificación debe enviarse la cepa aislada a la Dilab (ver pág.4 punto e).