

MICROBIOLOGÍA DEL HUEVO Y *SALMONELLA* SPP.

GUILLERMO SUÁREZ FERNÁNDEZ

«Un huevo fresco es aquel que no presenta ningún riesgo de provocar una toxiinfección cualquiera que sea el tipo de preparación culinaria a que se le someta». Bernard Sauveur. INRA, Tours.

La salmonelosis es una toxiinfección alimentaria producida por bacterias del género **Salmonella** que comprende más de 2.700 serovariedades o serotipos, cuya clasificación y diferenciación tiene un gran valor epidemiológico a la hora de evaluar un brote infeccioso y su origen. El progreso en los esquemas de clasificación en **Salmonella**, con nuevas especies y subespecies diferenciadas por métodos moleculares tiene una finalidad científica indudable, pero la epidemiología nos dice que cualquier serotipo puede ser patógeno en determinadas condiciones para el hombre y los animales. Existe, sin embargo, cierta restricción de hospedador frente a ciertos serotipos y **S. entérica** sv. Typhi ataca, exclusivamente, al hombre, la sv. Pullorum y la sv. Gallinarum solamente infectan a las aves, la sv. Abortus ovis afecta a la oveja como la sv. Abortus equi a los equinos. Son éstas excepciones que confirman la regla. (Tabla 1).

La mayor incidencia de salmonelosis humana y animal se debe a los serovares Enteritidis y Typhimurium, capaces de producir infección o toxiinfección indiscriminadamente en el hombre, animales de renta y compañía y roedores salvajes.

La infección por **Salmonella** se caracteriza, en general, por un síndrome febril con gastroenteritis grave si el proceso septicémico no se trata debidamente. El término toxiinfección pretende armonizar el hecho infeccioso de la invasión gastrointestinal y la difusión sistémica de **Salmonella**, con la absorción de endotoxinas o lipoproteínas de las salmonelas, destruidas a nivel del intestino por los mecanismos defensivos, aunque esta acción patógena es escasamente significativa frente a la propia infección microbiana.

EL AGENTE ETIOLÓGICO. GÉNERO *SALMONELLA*

Salmonella spp. se compone de bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, pertenecientes a la familia **Enterobacteriaceae**.

Los miembros de este género son móviles debido a la acción de flagelos peritricos, con muy escasas excepciones a esta cualidad a causa de una disfunción flagelar, tal y

como ocurre en **S. pullorum** y **S. gallinarum**, serovariantes adaptadas a las aves en las que provocan procesos infecciosos tales como la pullorosis en los pollitos y el cólera o tifosis aviar en el ave adulta.

Las salmonelas son organotróficas, capaces de metabolizar los nutrientes por una vía respiratoria o fermentativa. Las salmonelas son oxidasa negativas y catalasa positivas, capaces de utilizar el citrato como única fuente de carbono, producen hidrógeno sulfurado, lisina y ornitina decarboxilasas y no hidrolizan la urea. Los microorganismos del género **Salmonella** tienen un crecimiento óptimo a 37°C y catabolizan la D-glucosa y otros carbohidratos con producción de ácido y gas.

Estos datos permiten una identificación bioquímica de las estirpes de **Salmonella** aisladas de diferentes substratos.

La siembra en agar-hierro-triple azúcar (TSI) y en medios diferenciales tales como verde brillante, desoxicolato y agar entérico Héktoen permiten abreviar en la identificación de las estirpes aisladas.

En el momento actual se tiende a reducir el número de biotipos en **Salmonella** debido a una variación genética por mutación o intercambio intragenérico e intergenérico de plasmidos que codifican determinadas características biológicas originando salmonelas atípicas que pueden originar problemas de diagnóstico, especialmente graves a nivel hospitalario o de explotación ganadera, en especial avícola.

La nomenclatura y el concepto taxonómico del género **Salmonella** han progresado a través de diversos esquemas basados en las características bioquímicas y serológicas, siendo el más conocido el de Kauffmann-White (Tabla 1). En las últimas décadas la clasificación del grupo **Salmonella** ha experimentado una auténtica revolución coincidiendo con el desarrollo de nuevas técnicas de Biología Molecular, PCR, hibridación, ribotipado, homología del DNA, hibridación, electroforesis en gel de campo pulsado, electroforesis de enzima multilocalizado y, en consecuencia queda anticuada la clasificación de **Salmonella** en cinco subgéneros y la consideración de **S. cholerasuis** como especie tipo que pasaría a **S. entérica** subsp. **entérica** serovar Typhimurium LT2. Existe la propuesta de elevar **S. entérica** subsp. **bongori** a una nueva especie **S. bongori** basado en el modelo electroforético de enzima multilocalizado.

<i>Base diagnóstica</i>	<i>Caracteres</i>	<i>Serotipo</i>
S.typhimurium	Bioquímica Tres especies (S. typhi, S. cholerasuis, S. enteritidis)	Cinco subgéneros (I-V) S. enteritidis sv. Typhimurium
Homología DNA - Análisis genético	Especie tipo y única especie S. cholerasuis Siete subespecies	S. entérica subsp. entérica sv. Typhimurium
Electroforésis de enzima multilocalizado	Dos especies S. entérica (con seis subespecies), S. bongori	S. entérica sp.

TABLA 1. *Esquemas taxonómicos de Salmonella spp.*

Este detalle taxonómico tiene escaso interés epidemiológico ya que en el Instituto Pasteur de París (Centro de Referencia de **Salmonella** de la OMS) el 99,2 por cien de los serotipos de **Salmonella** aislados pertenecen a **S. entérica**.

Las serovariantes de **S. entérica** se dividen en siete grupos de los cuales el grupo I incluye los serotipos patógenos para el hombre y los animales como **S. entérica** sv. Typhiy o las siguientes serovares: **Paratyphi**, **Enteritidis**, **Typhimurium**, **Cholera-suis**, **Dublin**, **Abortusovis**, **Pullorum**, **Gallinarum**, entre otras.

Las salmonelas son microorganismos de gran ubicuidad en el ambiente y su «habitat» natural se encuentra en el canal gastrointestinal de los animales, vertebrados homeotermos y poiquilotermos. Esta circunstancia unida a las prácticas de manejo ganadero a nivel de la explotación ganadera perpetúan el ciclo de contagio e infección en **Salmonella** spp. (Tabla 2).

SALMONELOSIS EN HUEVOS Y OVOPRODUCTOS

El huevo tiene una estructura biológica que hace difícil su contaminación y la penetración de gérmenes desde el exterior no es fácil mientras conserve la película de mucina superficial que lo recubre, las membranas internas íntegras y las propiedades bacteriolíticas de la clara. Ambas defensas se debilitan o desaparecen en 48 horas y la cáscara se hace permeable especialmente en condiciones de temperatura y humedad elevadas o cambios en la presión interna del huevo.

El huevo

Las barreras físicas que evitan de forma mecánica la penetración y progresión bacteriana hacia la yema del huevo son, la cutícula, la cáscara, las membranas, la clara o albumen y la membrana vitelina.

La cutícula exterior de carácter proteico se deseca con rapidez tras la puesta y protege al huevo al obturar los poros de la cáscara, efecto protector que se va debilitando para desaparecer prácticamente a los dos o tres días. Al enfriarse el huevo después de la puesta se produce una contracción del contenido del huevo pero la cutícula, en principio, impide la penetración de aire o gérmenes a través de los poros de la cáscara, constituida por una trama proteica calcificada.

El número de poros por huevo varía de 7.000 a 15.000, su diámetro de 10 a 30 micras y cada cm² contiene entre 100 y 200, siendo más numerosos en la parte más gruesa, de mayor bóveda, a fin de favorecer la respiración del futuro embrión. Las variaciones de temperatura actúan sobre el recambio gaseoso del huevo, aceleran la formación de la cámara de aire en el polo superior achatado y favorecen la penetración de las bacterias exteriores a través de la cáscara y membranas.

La cutícula proteica externa de 0,01 mm. de espesor, que recubre el huevo evita en principio la contaminación interna, lo que explica la conveniencia de no lavar la cáscara de los huevos destinados al consumo humano.

La parte interna de la cáscara se halla recubierta por dos membranas de un espesor total de 0,07 mm., siendo la externa de doble grosor como mínimo que la interna (0,025mm.). Estas membranas están formadas por fibras proteicas de queratina entrecruzadas recubiertas de glicoproteinas que contienen aminoácidos poco comunes como la desmosina y la isodesmosina. Las dos membranas están adheridas entre sí, formando una eficaz barrera protectora, pero al formarse la cámara de aire se separan y pierden efectividad mecánica si bien conservan cierta actividad enzimática y bacteriolítica.

La clara líquida externa tiende a incrementar el pH de 7,4 en el momento de la puesta hasta 9,3 después de varios días de almacenaje. Este pH elevado se explica por la difusión de CO₂ desde el exterior incrementando los bicarbonatos y no favorece el crecimiento bacteriano, sin llegar a ser bactericida.

La parte espesa de la clara frena la difusión de los microorganismos en virtud de la consistencia viscosa que le proporciona la ovomucina pero, además, existen mecanismos químicos y biológicos de tipo enzimático y efecto bacteriostático o bacteriolítico, como son la lisozima, transferrina, avidina y flavoproteína, principalmente. Todas estas defensas a las que habría que añadir la membrana vitelina que protege a la yema, explican por qué la contaminación del huevo es de origen exterior habitualmente y rara vez se contamina la yema.

Granja y manejo

Existen factores que inciden claramente en la contaminación del huevo.

La ausencia de control microbiano en las granjas e industrias productoras de pienso para animales, harinas de carne y pescado han asegurado la presencia de **Salmonella** spp. en la cadena alimentaria. (Tabla 2).

Con respecto al mito sobre papel del huevo y los ovoproductos, como frecuente causa de salmonelosis en el hombre, a consecuencia de una hipotética transmisión transovárica de **Salmonella** spp. se puede decir que esta posibilidad está en sus horas bajas en el momento actual porque si bien se ha logrado producir por vía experimental inoculando por vía oral fuertes dosis de salmonelas (> 10⁹) el porcentaje de huevos infectados verticalmente es muy bajo < 3 por cien y estas condiciones experimentales extremas de contagio, no se dan de manera natural en las explotaciones avícolas.

En consecuencia, un huevo limpio procedente de una ponedora no infectada no debe albergar salmonelas en su interior, pero los huevos sucios puestos por aves enfermas, en especial por las afectadas de diarrea son potencialmente peligrosas ya que las envolturas pueden haberse contaminado desde el exterior.

Una excepción a esta regla la presentan los huevos de pata que son portadores en sus heces de **Salmonella** especialmente de los serotipos **S. entérica** sv. Enteritidis, sv. Typhimurium y sv. Anatum. Estas aves ponen con frecuencia en lugares húmedos y no es infrecuente la infección ascendente del oviducto.

Por tanto, y sin abandonar el plano conceptual apoyado en la investigación alimentaria la vieja idea de la contaminación bacteriana transovárica del huevo por mecanis-

Año	País	Alimento	Serovar.	Casos
1973	Canadá	Chocolate	S. eastbourne	217
1973	Trinidad	Leche en polvo	S. derby	3.000
1974	Estados Unidos	Ensaladilla	S. newport	3.400
1976	Australia	Leche natural	S. typhimurium	500
1976	España	Ensaladilla	S. typhimurium	702
1977	Suecia	Mostaza de aliño	S. enteritidis	2.865
1981	Holanda	Ensalada	S. indiana	600
1981	Escocia	Leche natural	S. typhimurium	654
1984	Canadá	Quesos Cheddar	S. typhimurium	2.700
1984	Francia	Paté de hígado	S. goldcoast	756
1985	Internacional	Helado	S. enteritidis	766
1985	Estados Unidos	Leche pasteurizada	S. typhimurium	1.000
1987	China	Bebida de huevo	S. typhimurium	1.113
1988	Japón	Pescado	S. champaign	151
1991	Japón	Huevo cocido	Salmonella	450
1991	Alemania	Macedonia de frutas	S. enteritidis	900
1993	Francia	Mayonesa	S. enteritidis	751
1993	Alemania	Patatas con pimiento	S. saintpaul	670
1994	Estados Unidos	Helado	S. enteritidis	645
1995	Finlandia	Brotos de alfalfa	S. bovismorbificans	492

TABLA 2. Principales brotes de salmonelosis humana.

mos naturales no se puede sostener. Existen dos serotipos de **Salmonella S. entérica** sv. Pullorum y sv. Gallinarum que producen enfermedades de carácter agudo, acentuada letalidad y gran interés económico para la industria avícola, pero no significan riesgo alguno para la salud pública.

La infección aviar generalizada por otros serotipos de **Salmonella** no es nada frecuente en pollos o en ponedoras.

La inoculación experimental de sv. **Enteritidis** por vía oral con elevadas cantidades de bacterias provoca la contaminación interna de un bajo porcentaje de huevos. Estas circunstancias, repetimos, no pueden darse en una explotación avícola de forma asintomática o larvada.

En consecuencia la contaminación interna o íntima de huevos recogidos y conservados en buenas condiciones higiénicas debe considerarse **excepcional**, pero no ocurre lo mismo con los ovoproductos.

Contaminación en ovoproductos

Existen los siguientes peligros de polución:

- Mezcla de un huevo contaminado con millares de huevos sanos.
- Insuficiente limpieza y desinfección del material.
- Manipuladores portadores de gérmenes.
- Retraso en la protección de la mezcla por el frío.

Estos riesgos de contaminación no son superiores a la de diversos lactoderivados, como leche en polvo y helados o diferentes preparados cárnicos tipo hamburguesa o embutidos frescos.

En el último cuarto de siglo se han registrado veintidós grandes epidemias de salmonelosis humana de origen alimentario y solamente en dos casos se estimó el origen del contagio a través del huevo, siendo un vehículo de infección comparativamente más frecuente, por ej., la carne picada o en embutidos o la leche natural y sus derivados.

La revisión del boletín Epidemiológico y Microbiológico del Instituto de Salud Carlos III correspondiente a los últimos cinco años nos muestra una predominación de los serotipos de **Salmonella** aislados de alimentos **S. entérica** sv. Enteritidis de 133 a 176 estirpes por año, **S. entérica** sv. Typhimurium de 59 a 69 cepas por año. Estos son los dos serotipos claramente dominantes a los que siguen en España los serotipos Hadar (37 a 47), Anatum (14 a 32), Wirchow (10 a 22), Derby (15 a 20), Sentenftemberg (16 a 18) e Indiana (13 a 15).

Los aislamientos de **Salmonella** en nuestro país tenían la siguiente procedencia alimentaria:

- Huevos y derivados, se aislaron un mínimo de 32 a 64 serovariantes por año del período 1995-1999.
- Carne de ave de 108 a 229 por año.
- Carne de vacuno, ovino, caprino y cerdo de 83 a 101 estirpes anuales.
- Origen desconocido en 71 a 93 cepas de **Salmonella** por año.

AVANCES MICROBIOLÓGICOS QUE EXPLICAN LA CRECIENTE DIVERSIDAD DE ESTIRPES Y SEROTIPOS EN SALMONELLA SPP.

Islas de Patogenicidad y Sistemas de Secreción Tipo III

En el futuro la amenaza de salmonelosis humana o animal, tendrá más que ver la biodiversidad y filogenia del género **Salmonella** que con la tecnología de la producción alimentaria cuyo control se ve mas al alcance de la mano.

Los genes de virulencia de las bacterias están organizados a menudo en regiones conocidas como islas de patogenicidad, codificadas bien en el cromosoma bacteriano o bien en grandes plásmidos. Las islas de patogenicidad en **Salmonella** se definen como largas zonas del cromosoma que codifican los genes responsables de la virulencia bacteriana en un modelo animal determinado o que son responsables del establecimiento de las interacciones de la bacteria con su hospedador.

Como en otras islas de patogenicidad, tienen generalmente un contenido menor en G+C (entre 37-47 %) que el resto del cromosoma bacteriano (alrededor de 52 %) y están insertadas a menudo en genes de t-RNA. Por lo tanto, las islas probablemente se han adquirido por transferencia horizontal de fagos o plásmidos de origen desco-

nocido y están altamente conservadas entre los diferentes serotipos de **Salmonella** spp.

Hasta el momento se han identificado cinco zonas de estas características. La isla de patogenicidad 1 de *Salmonella* (SPI 1) se localiza en el centisoma 63 del cromosoma y tiene alrededor de 40 kb. SPI 1 se requiere principalmente para la entrada del patógeno en las células epiteliales del hospedador (fenómeno conocido como invasión) y en la citotoxicidad de macrófagos. La segunda isla de patogenicidad, SPI 2, tiene también un tamaño aproximado de 40 kb y se localiza en el centisoma 31 del cromosoma. SPI 2 está implicada en la supervivencia de **Salmonella** dentro de los macrófagos.

Además de estas dos grandes islas de patogenicidad, se han descrito otras de menor tamaño: SPI 3 en el centisoma 82 con 17 kb, SPI-4 de 27 kb en el centisoma 92 y SPI-5 de aproximadamente 10 kb en el centisoma 25. Estas tres islas se requieren para el crecimiento y la supervivencia de la bacteria dentro del hospedador en la fase sistémica de la enfermedad. Recientemente se han identificado factores de virulencia en SPI-5 que parecen implicados en la inflamación que caracteriza la fase entérica de la infección por **Salmonella** spp.

SPI-1 y SPI-2 codifican ambas para sistemas de secreción tipo III que median el fenotipo de virulencia mediante translocación de las proteínas codificadas por la bacteria en el citoplasma de la célula hospedadora. Los sistemas de secreción tipo III consisten en un conjunto amplio de proteínas (pueden ser 20 o más) con diferentes funciones, muchas de ellas homólogas a las proteínas del aparato flagelar. Este tipo de sistemas de secreción son utilizados por muchos patógenos animales (*Shigella*, *Yersinia*, *E. coli* enteropatógenos, *Chlamydia*) o fitopatógenos (*Pseudomonas*, *Erwinia* y *Xanthomonas*) que tienen en común la capacidad de interactuar con la célula hospedadora y secretar factores de virulencia. Usando estos sistemas, los microorganismos son capaces de desarrollar la secreción coordinada de un amplio intervalo de proteínas consideradas como factores de virulencia y en ocasiones su translocación a la célula hospedadora eucariota para interferir en la mayoría de los casos con las rutas de transducción de señales de dicha célula.

La mayor parte de las proteínas investigadas en los sistemas de secreción tipo III pertenecen a las siguientes categorías: (i) componentes del aparato de secreción en sí, incluyendo proteínas estructurales localizadas en la membrana interna y/o externa, proteínas implicadas en la transducción de energía (como ATPasas), chaperonas y proteínas con función reguladora. (ii) proteínas secretadas implicadas en el proceso de secreción o con función efectora en el interior de la célula hospedadora. Las proteínas efectoras requieren generalmente chaperonas específicas que impiden el plegamiento incorrecto, degradación o asociación prematura, y pueden incluso ayudar al transporte de las proteínas efectoras en las células hospedadoras. Los sistemas de secreción tipo III están además altamente regulados y las proteínas son solamente secretadas cuando las bacterias encuentran las señales ambientales adecuadas. En este sentido, se cree que como sistema de secreción tipo III, SPI-1 es contacto-dependiente al igual que los de *Shigella* o *Yersinia*. Esta es sin duda, una de las líneas de investigación de mayor interés en el género **Salmonella** spp. que habrá de repercutir en el control y prevención de la salmonelosis humana y animal.

Plásmidos y virulencia en *Salmonella* spp.

Desde el punto de vista de la patogenicidad las serovariantes de **S. entérica** que se integran en el grupo I, en condición de subespecies de mayor virulencia entre las que figuran, entre otras, sv. Typhi, sv. Paratyphi, sv. Enteritidis y sv. Typhimurium, son portadoras de plásmidos de gran tamaño y escaso número de copias que contienen los genes de la virulencia. Los plásmidos de la virulencia de **Salmonella** son imprescindibles para iniciar el proceso infeccioso si bien su función patogénica en la fase entérica de la infección no se conoce bien.

La presencia de los plásmidos de virulencias en las salmonelas de mayor patogenicidad y poder de adaptación ambiental nos quiere indicar que estos plásmidos podrían ampliar el intervalo patogénico de receptividad específica de hospedador favoreciendo así la extensión de la salmonelosis, creando nuevos reservorios y vectores en la fauna animal, de máximo interés en el ciclo de contagio por **Salmonella**.

CONCLUSIÓN FINAL

En resumen, el mito de la peligrosidad del huevo como vehículo de **Salmonella** nace de la posibilidad de transmisión vertical a través del ovario y esto no es cierto a la luz del conocimiento actual, ya que la **S. entérica** en sus variedades Pullorum y Gallinarum que son las salmonellas específicamente patógenas y letales para las aves, no han originado nunca, que sepamos, epidemias humanas y las variantes Enteritidis y Typhimurium no suelen producir septicemias en las aves y de hecho en los huevos en que se encuentran salmonelas están localizadas en la parte interior de la cáscara y membranas envolventes internas, muy pocas veces en la clara y excepcionalmente en la yema, lo que revela una contaminación externa por las heces en la cloaca.

De todo esto podemos concluir que un huevo fresco procedente de ponedoras sanas recogido y manejado en condiciones higiénicas de garantía, no permite pensar en una contaminación en origen y en cuanto a los ovoproductos el riesgo de contaminación no es, en absoluto, superior al de la transformación industrial de la leche natural o al de la producción de los derivados cárnicos o productos de la pesca.

En el momento actual se investigan diversos aspectos genéticos de base molecular en relación con las Islas de Patogenicidad y Plásmidos de Virulencia para ampliar el conocimiento sobre el ciclo de infección y contagio, a fin de prevenir de manera efectiva y racional la salmonelosis humana y animal de origen alimentario.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Armstrong, R. W., T. Fodor, G. T. Curlin, A. B. Cohen, G. K. Morris, W. T. Martin, y J. Feldman.** 1970. Epidemic *Salmonella* gastroenteritis due to contaminated imitation ice cream. *Am. J. Epidemiol.* **91**:300-307.
2. **Blanc-Potard, A. B., Solomon, F., Kayser, J., y Groisman, E.A.** 1999. The SPI-3 pathogenicity island of *Salmonella* entérica. *J. Bacteriol.* **181**:998-1004.
3. **Blaser, M. J., y L. S. Newman.** 1982, A review of human salmonellosis. I. Infective dose. *Rev. Infect. Dis.* **4**:1096-1106.
4. **Chen L. M., Kaniga, K., y Galán, J. E.** 1996. *Salmonella* spp. are cytotoxic for cultured macrophages. *Mol. Microbiol.* **21**:1101-1115.
5. **Chopra, A. K., y J. W. Peterson.** 1994. Molecular characterization of *Salmonella* enterotoxin. Presented at the 7th International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology Division, Prague, Czechoslovak Republic.
6. **Collazom C. M., M. K. Zierler, y J. E. Galán.** 1995. Functional analysis of the *Salmonella typhimurium* invasion genes *inv I* and *inv J* and identification of a target of the protein secretion apparatus encoded in the *inv* locus. *Mol. Microbiol.* **15**:25-38.
7. **D'Aoust, J. Y.** 1991. Pathogenicity of foodborne *Salmonella*. *Int. J. Food Microbio.* **12**:17-40.
8. **D'Aoust, J. Y.** 1994. *Salmonella* and the international food trade. *Int. J. Food Microbiol.* **24**:11-31.
9. **Eichelberg, K., C. C. Ginocchio, y J. E. Galán.** 1994. Molecular and functional characterization of the *Salmonella typhimurium* invasion genes *invB* and *invC*: homology of *invC* to the F₀F₁ ATPase family of proteins. *J. Bacteriol.* **176**:4501-4510.
10. **Fantasia, M., y E. Filetici.** 1994. *Salmonella enteritidis* in Italy. *Int. J. Food Microbiol.* **21**:7-13.
11. **Finlay, B. B.** 1994. Molecular and cellular mechanisms of *Salmonella* pathogenesis. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **192**:163-185.
12. **Galán, J. E., y C. Ginocchio.** 1994. The molecular genetic bases of *Salmonella* entry into mammalian cells. *Biochem. Soc. Trans.* **22**:301.
13. **García del Portillo, F., y B. B. Finlay.** 1994. Invasion and intracellular proliferation of *Salmonella* within nonphagocytic cells. *Microbiologia SEM* **10**:229-238.
14. **García del Portillo, F., J. W. Foster, y B. B. Finlay.** 1993. Role of acid tolerance response genes in *Salmonella typhimurium* virulence. *Infect. Immun.* **61**:4489-4492.
15. **Ginocchio, C., Pace, J., y Galán, J. E.** 1992. Identification and molecular characterization of a *Salmonella typhimurium* gene involved in triggering the internalization of salmonellae into cultured epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **89**:5976-5980.
16. **Ginocchio, C. C., y J. E. Galán.** 1995. Functional conservation among members of the *Salmonella typhimurium* InvA family of proteins. *Infect. Immun.* **63**:729-732.
17. **Guiney, D. G., F. C. Fang, M. Krause, y S. Libby.** 1994. Plasmid-mediated virulence genes in non-typhoid *Salmonella* serovars. *FEMS Microbiol. Lett.* **124**:1-10.
18. **Lee, L. A., N. D. Puhr, E. K. Maloney, N. H. Bean, y R. V. Tauxe.** 1994. Increase in antimicrobial-resistant *Salmonella* infections in the United States, 1989-1990. *J. Infect. Dis.* **170**:128-134.
19. **Lepoutre, A., J. Salomon, C. Charley, y F. LeQuerrec.** 1994. Les toxi-infections alimentaires collectives en 1993. *Bull. Epidemiol. Hebd.* **52**:245-247.

20. **Marcus, S. L., Brumell, J. H., Pfeifer, C. G., y Finlay, B. B.** 2000. *Salmonella* pathogenicity islands: big virulence in samall packages. *Microbes and Infection*. **2**:145-156.
21. **Mason, J.** 1994. *Salmonella enteritidis* control programs in the United States. *Int. J. Food Microbiol.* **21**:155-169.
22. **Ochman, H., Soncini, F. C., Solomon, F., y Groisman, E. A.** 1996. Identification of a pathogenicity island required for *Salmonella* survival into host cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **94**:7800-7804.
23. **Polotsky, Y., E. Dragunsky, y T. Khavkin.** 1994. Morphologic evaluation of the pathogenesis of bacterial enteric infections. *Crit. Rev. Microbiol.* **20**:161-208.
24. **Richard, F., E. Pons, B. Lelore, V. Bleuze, B. Grandbastien, C. Collinet, R. Mathis, J.-F. Diependale, y P. Le-grand.** 1994. Toxi-infection alimentaire collective du 8 juin 1993 à Douai. *Bull. Epidemiol. Hebd.* **3**:9-11.
25. **Roberts, J. A., y P. N. Sockett.** 1994. The socioeconomic impact of human *Salmonella enteritidis* infection. *Int. J. Food Microbiol.* **21**:117-129.
26. **Rotger, R. y Casadesús, J.** 1999. The virulence plasmids of *Salmonella*. *Internatl. Microbiol.* **2**:117-184.
27. **Sauveur, B.** 1993. El huevo para el consumo: bases productivas. *Mundi-Prensa. Madrid.*
28. **Suárez, M., y Russmann, H.** 1998. Molecular mechanisms of *Salmonella* invasion: the type III secretion system of the pathogenicity island 1. *Internatl. Microbiol.* **1**:197-204.
29. **Thapon, J. L. y Bourgeois, C. M.** 1994. L'oeuf et les ovoproduits. *Edit. Tecni-que et Documentation. París.*
30. **Wong, K. K., McClelland, M., Stillwell, L. C., Sisk, E. C., Thurston, S. J., y Saffer, J. D.** 1998. Identification and sequence analysis of a 27-kb chromosomal fragment containing a *Salmonella* pathogenicity island located at 92 minutes on the chromosome map of *Salmonella enterica* serovar typhimurium LT2. *Infect. Immun.* **66**:3365-3371.
31. **Wood, M. W., Jones, M. A., Watson, P. R. Hedges, S., Wallis, T. S., y Gal-yov, E. E.** 1998. Identification of a pathogenicity island required for a *Salmonella* enteropathogenicity. *Mol. Microbiol.* **29**:883-891.
32. **World Health Organization.** 1988. *Salmonellosis Control: the Role of Animal and Product Hygiene.* Technical Report Series 774. World Health Organization, Geneva.
33. **World Health Organization.** 1992. *WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe. Fifth Report 1985-1989.* Institute of Veterinary Medicine-Robert von Ostertag Institute, Berlin.
34. **Zastrow, K. D., y I. Schöneberg.** 1993. Outbreaks of food-borne infections and intoxications in the Federal Republic of Germany 1991. *Gesundh. Wes.* **55**:250-253.