

Los proyectos **SAFEHOUSE** y **RESCAPE**

Newsletter UE, N° 2, febrero 2009

Los Proyectos de Investigación **SAFEHOUSE** y **RESCAPE** van dirigidos a analizar y controlar la contaminación del huevo por *Salmonella* después del movimiento de las gallinas ponedoras a jaulas enriquecidas y otros tipos de sistemas de alojamiento. En estos dos consorcios participan 22 laboratorios públicos y del sector privado en 11 países.

Cada proyecto adopta un enfoque diferente pero complementario para dar respuestas y posibles soluciones a cuestiones importantes relacionadas con la seguridad de los huevos, tras la prohibición de las jaulas convencionales propuesta para 2012.

El objetivo de este boletín es proporcionar información actualizada sobre los progresos de estos dos importantes proyectos de investigación que ahora están en su último año.



RESCAPE y **SAFEHOUSE** son dos proyectos específicos de investigación focalizados (STREP) financiados por el 6º Programa Marco de Investigación de la Unión Europea. Comisión de las Comunidades Europeas Dirección General de Investigación - General - (Alimentos)

Uno de los objetivos principales del proyecto **SAFEHOUSE** es recoger y analizar datos cuantitativos que evalúen el efecto del sistema de alojamiento sobre la contaminación en

el huevo por los agentes zoonóticos en el campo, a fin de predecir el riesgo potencial para el consumidor de la transición a sistemas de alojamiento de gallinas ponedoras de mayor bienestar:

En el primer año del proyecto, se llevó a cabo un análisis de los datos existentes a partir de un estudio de referencia realizado por la EFSA en toda la UE sobre *Salmonella* en planteles de gallinas ponedoras en el período 2004-2005. Esto determinó que en 2004-2005 hubo una diferencia significativa en la prevalencia de *Salmonella* según el tipo de alojamiento, con la mayor prevalencia en los sistemas de jaulas, prevalencia intermedia en sistemas en suelo y más baja prevalencia en gallinas camperas libres, estándar y ecológicas.

En el segundo año del estudio, se ha concluido la recopilación de nuevos datos sobre la presencia de *Salmonella* y resistencia antimicrobiana en gallinas ponedoras alojadas en los diferentes tipos de alojamiento. En nuestro estudio de campo cruzado seccionado, se muestrearon un total de 311 granjas de gallinas ponedoras en 6 países —Bélgica, Alemania, Suiza, Italia, Grecia y Turquía—. Algunos de nuestros resultados preliminares de este estudio se resumen en la Tabla 1, pero debe llevarse a cabo un análisis más detallado para determinar qué factores —por ejemplo, la edad de las instalaciones, infecciones previas, la magnitud del plantel, país...— potencialmente asociados con el tipo de alojamiento, son co-influyentes en estos resultados. Podemos confirmar, sin embargo, que los piojos rojos no parecen ser un vector en la transmisión de *Salmonella* en ninguno de los sistemas que se han muestreado.

También hemos completado un estudio más intensivo en el que hemos tomado muestras repetidas de 13 planteles en jaulas convencionales, 14 sistemas criadas en suelo, 14 sistemas de camperas libres, 4 planteles

Artículo patrocinado por



Tabla 1. Estudio cruzado seccionado: N° de planteles muestreados por sistema e incidencia de planteles positivos a *Salmonella* en una o más de las muestras tomadas.

Tipo de sistema	Número	N° de planteles positivos a <i>Salmonella</i>
Batería de jaulas convencionales	65	20 (30,7 %)
Sistemas en suelo (con y sin salida a patio)	115	7 (6,1 %)
Sistemas en libertad	57	7 (12,3 %)
Ecológicas	72	2 (2,8 %)
Jaulas enriquecidas	1	0 -
Sistema de aviarios	1	0 -

orgánicos, 4 planteles en jaulas enriquecidas —2 tipos— y 1 sistema de aviario en 3 países diferentes —Alemania, Bélgica y Dinamarca—. Los datos de este estudio, todavía han de ser analizados, pero podemos informar que un total de 10 —el 28,6%— de estos 35 planteles dieron resultados positivos para *Salmonella* en una o más visitas.

Se ha aislado una amplia variedad de *Salmonella spp.* en nuestro estudio de campo, pero *S. enteritidis* todavía parece ser el fagotipo más predominante, presente en nuestros planteles. Todas las cepas aisladas de *Salmonella* se han fagotipado y se ha determinado su patrón de resistencia a los antimicrobianos utilizando bacterias indicadoras. Han sido aisladas 1147 cepas de *E. coli*, 842 cepas de *Enterococcus faecalis* y 161 cepas de *Enterococcus faecium*, que se han sometido a prueba. Los resultados de las pruebas de resistencia a los antimicrobianos estarán disponibles en breve.

SAFEHOUSE también está llevando a cabo modelos normalizados de infección experimental con *Salmonella*, para evaluar directamente el efecto del sistema de alojamiento en la colonización del intestino y órganos internos, incluidos los tejidos reproductivos, sobre la diseminación de una infección por *Salmonella* dentro de un grupo de gallinas ponedoras y sobre la contaminación de los huevos.

Nuestros dos primeros ensayos de infección experimental, en los que se inocularon las gallinas ponedoras alojadas en diferentes sistemas —aviarios, jaulas en

batería, jaulas enriquecidas— revelaron que la diseminación y la colonización del intestino y órganos internos por *Salmonella*, no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos alojados en diferentes sistemas. En nuestros más recientes estudios hemos prestado atención a la diseminación de una infección por *Salmonella* en grupos de animales alojados en diferentes sistemas —aviarios, jaulas en batería, jaulas enriquecidas y en suelo—, tras la inoculación por vía oral del 50 % de las aves en cada grupo con *Salmonella Enteritidis*. Los huevos de este estudio se han analizado diariamente para contaminación por *Salmonella* y también se ha examinado si hubiera evidencia de diseminación y colonización del intestino y órganos internos. Los resultados de este estudio estarán disponibles en breve.

Los mecanismos subyacentes de las posibles diferencias en la prevalencia de *Salmonella* y otros agentes zoonóticos en los diferentes sistemas de alojamiento, se están investigando en SAFEHOUSE analizando las respuestas al estrés, la composición de la microbiota y la competencia inmunológica, en gallinas alojadas en diferentes sistemas, tanto en instalaciones experimentales como en el campo.

Nuestros estudios iniciales sugirieron que las aves alojadas en aviarios presentan una gama de comportamientos y actividades mucho más amplia que las alojadas en baterías convencionales y jaulas enriquecidas. Las gallinas alojadas en aviarios también tienen menores niveles basales de corticoesterona. Mediante el uso de T-RFLP se ha establecido que la microbiota intestinal de las gallinas alojadas en los tres diferentes sistemas también es muy divergente.

Más recientemente también hemos examinado los efectos de la administración a la gallina de los compuestos asociados al estrés, corticoesterona o norepinefrina, sobre la colonización del intestino, la colonización de los tejidos reproductivos y la contaminación de huevos con *Salmonella*. Se han completado 2 ensayos. El primero de ellos fue un estudio a lo largo del tiempo con 3 puntos de tiempo en 14 días, mientras que el segundo se centró en el momento más interesante identificado en el primer ensayo, a saber, día 7 después de la infección. En ambos ensayos las gallinas fueron tratadas con 20 mg de corticoesterona ya fueran disueltos en 1 ml de etanol por litro de agua de bebida o sólo 1 ml de etanol por litro de agua de bebida. En los días 1 y 14 después de la infección —Prueba 1 solamente—, no hubo diferencia significativa en la carga bacteriana de los órganos entre los grupos de tratamiento. El día 7 —ensayos 1 y 2 combinados—, el tratamiento no tuvo efecto sobre el recuento en los

ciegos. Por el contrario, el recuento en el hígado fue significativamente mayor en los tratados con corticoesterona en comparación con el grupo tratado con etanol.

El número de aves con oviductos que resultaron ser positivos por recuento directo o tras enriquecimiento, también fue significativamente más elevado en el grupo tratado con corticoesterona en comparación con el grupo tratado con etanol. Además, la carga bacteriana en los oviductos infectados fue significativamente mayor en el grupo tratado con corticoesterona, incluyendo 1 ave con recuentos superiores a 107/g en estos órganos.

También estamos interesados en los efectos de los compuestos asociados al estrés —corticoesterona y norepinefrina— sobre la expresión genética y el metabolismo de *Salmonella*. Para examinar esto, hemos venido llevando a cabo análisis de la expresión genética sobre cultivos de *Salmonella* tratados con hormonas. Nuestros resultados iniciales sugieren que el efecto de norepinefrina sobre la expresión genética es mucho más dramático que el inducido por corticoesterona. Este resultado se correlaciona con el efecto de estas 2 hormonas sobre las tasas de crecimiento celular. Cuando las células fueron cultivadas en presencia de corticoesterona, 157 genes fueron sobre-regulados —más de 2 veces— y 17 genes infra-regulados —más de 2 veces— en comparación con la condición de referencia, mientras que en cultivos de *S. enteritidis* crecidos en presencia de norepinefrina, 685 genes estaban sobre-regulados —más de 2 veces— y 230 genes fueron infra-regulados —más de 2 veces.

Utilizando métodos de mapeo del genoma, SAFEHOUSE busca genes implicados en la predilección específica de *Salmonella Enteritidis* para colonizar el tracto reproductivo de las gallinas ponedoras y para contaminar sus huevos.

Para determinar los perfiles de expresión génica específicos de *Salmonella Enteritidis* dentro de células del magno de las aves, hemos realizado una serie de experimentos con microarrays de ADN. Ya que previamente se ha optimizado el método para extraer ARN de *S. typhimurium* de células epiteliales humanas —HeLa—, primero tuvimos que comparar los perfiles de expresión génica de ambos serovares durante un experimento a lo largo del tiempo, de invasión de células HeLa. Los resulta-

dos fueron comparables, lo que confirma que, aunque *S. typhimurium* parece más citotóxica que *S. enteritidis* hacia las células HeLa, los mismos conjuntos de genes son por lo general infra o sobre regulados durante la invasión de las células epiteliales humanas. Estos resultados también validan nuestro método para el serovar *Enteritidis*. El mismo protocolo se utiliza para comparar perfiles de expresión génica de *S. enteritidis* en células primarias del magno con los resultados obtenidos a partir

de la invasión de células HeLa. A partir de esto, se ha obtenido una lista de genes sobre-regulados específicamente cuando *S. enteritidis* invade las células magnas de pollo. Esta lista fue utilizada como punto de partida para seleccionar los genes mutantes a ser construidos.

Dos de ellos fueron elegidos

sobre la base de los resultados de indexación genómica y de anotación del genoma. Los otros 11 mutantes se eligieron entre los genes más sobre-regulados en células magnas primarias en comparación con las células HeLa y en la probabilidad de que desempeñen cierto papel en la infección de los pollos de acuerdo a la bibliografía. La primera parte del análisis de fenotipos mutantes ya se ha logrado. La capacidad de invasión en células HeLa, de todos los mutantes deletados no es significativamente diferente de la de la cepa de tipo de campo. El mismo tipo de experimento se llevará a cabo próximamente en células primarias de pollo; por tanto, esperamos ver una reducida invasibilidad hacia las células magnas para algunos o la totalidad de los mutantes deletados probados.

El control de vectores, es decir, moscas, escarabajos y piojos rojos es otro tema clave en el proyecto SAFEHOUSE. Está siendo evaluada la eficacia de hongos específicos de artrópodos, en combinación con otros métodos, para el control de los artrópodos portadores, particularmente ácaros ectoparásitos.

El trabajo realizado hasta la fecha ha llevado a un conocimiento detallado acerca de la eficacia y modo de acción de una serie de diferentes productos en forma de polvo inerte. El análisis ha mostrado agrupaciones relativamente claras de los productos con respecto a la desecación de los piojos rojos de las aves y de su eficacia como agentes de control.

Experimentos de exposición tarsal han puesto de manifiesto tanto la tasa de absorción de los diferentes productos y también las diferencias en la repelencia de

Las aves alojadas en aviarios presentan una gama de comportamientos y actividades mucho más amplia que las alojadas en baterías convencionales y jaulas enriquecidas

los productos. El análisis de la correlación entre la repelencia y la eficacia a diferentes humedades relativas ha indicado que los ácaros de las aves, en cierta medida pueden detectar cómo de nocivo es un tratamiento y por tanto, evitarlo. Sin embargo, existen diferencias en el nivel general de repelencia para los diferentes productos. Basándose en estos estudios, fueron probados tres productos en polvo inerte, en combinación con los aislados de los hongos seleccionados para su posible efecto sinérgico. Los análisis de los datos preliminares han indicado que existe, de hecho, un efecto sinérgico, al menos a dosis y humedades relativas determinadas. Sin embargo se necesitan análisis adicionales de los datos para confirmar esto.

La dinámica de la transmisión en términos de tasa de absorción de hongos tipo conidios por los ácaros, se ha estudiado en diferentes dosis y humedades relativas. A las dosis probadas fueron recogidos conidios en las superficies tratadas, pero la respuesta a la dosis fue débil y los niveles de mortalidad no fueron satisfactorios. La humedad relativa ha demostrado ser un factor importante, ya que se pudieron obtener tasas de infección más altas con 75% de humedad relativa en comparación a 85% de humedad relativa.

También se han iniciado trabajos sobre la longevidad de las esporas de los hongos y el polvo inerte. Actualmente es objeto de un estrecho seguimiento la capacidad letal y de germinación de esporas de un aislado de hongo, un producto de tierra de diatomeas y una mezcla de los dos, incubados a diferentes niveles de humedad relativa

Para poder detectar las infestaciones tempranas de moscas, escarabajos y ácaros en las naves de las aves y por tanto, de aumentar las posibilidades de su control, es imprescindible que haya disponibles buenas herramientas de control. Los métodos descritos en la bibliografía y en informes técnicos han sido identificados y los resultados han sido reunidos en un informe que debe ser publicado.

Más detalles sobre el proyecto SAFEHOUSE pueden obtenerse visitando <http://www.safehouse-project.eu>

o por correo electrónico al coordinador de SAFEHOUSE Dr. Filip Van Immerseel en filip.vanimmerseel@ugent.be

EL PROYECTO RESCAPE

El proyecto RESCAPE también está estudiando el control de vectores mediante la evaluación de cómo los antígenos de los piojos rojos podrían contribuir al desarrollo final de una vacuna contra esta plaga tan común.

Ya se ha desarrollado una prueba ELISA específica para los antígenos del piojo rojo y se han llevado a cabo dos ensayos de vacunación. Estos 2 tratamientos indujeron una respuesta inmune —presencia de anticuerpos IgY—, pero esta respuesta no era suficiente para controlar de forma efectiva la población de ácaros.

El objetivo principal del proyecto RESCAPE, sin embargo, es mejorar la seguridad del huevo mediante el fortalecimiento de las defensas naturales del huevo, eliminando los huevos de riesgo y el desarrollo de nuevos métodos para la descontaminación del huevo. Uno de los principales objetivos de RESCAPE, por lo tanto, ha sido identificar los componentes del huevo responsables de sus propiedades antimicrobianas.

El análisis transcriptómico de diversas partes del oviducto involucradas en la síntesis de los diferentes compartimentos del huevo reveló más de 2700 genes que se expresan de forma diferencial, entre ellos numerosos genes sobre-expresados —más de 700 en células en el magno o en el útero con diferencias desde 1,2 hasta 60 veces—. La anotación funcional de las proteínas correspondientes está siendo investigada, usando herramientas bioinformáticas. Este enfoque permitió la

identificación de nuevas proteínas antimicrobianas y antioxidantes, proteasas y antiproteasas. En paralelo, 63 secuencias antimicrobianas codificadas por inserciones de cADN en la "biblioteca" reproductiva de la gallina, han sido identificadas mediante un método

de cribado de alto rendimiento basado en la detección de la actividad antimicrobiana. Su mecanismo de acción como agente antimicrobiano es actualmente objeto de investigación.

En este estudio nos hemos centrado principalmente en la cáscara —incluyendo la cutícula— y la clara de huevo. Se plantearon enfoques proteómicos para examinar los componentes de la cutícula y de la clara del huevo. Métodos mejorados de extracción de la cutícula y de preparación de la muestra, en combinación con análisis de espectrometría de masas, confirmaron la

Una décima parte de las membranas vitelinas de las gallinas al inicio y mitad de la puesta resistieron la penetración de *Salmonella enteritidis* durante 3 semanas

presencia de ovocalixinas 25, 32, 36 y ovocleidina 116, como candidatos putativos para la selección asistida de marcadores. Además, han sido seleccionados fracciones de la clara de huevo por su actividad anti-salmonelósica y actualmente se están analizando e identificando por espectrometría de masas, las proteínas de las fracciones más activas. En paralelo, ha sido desarrollada la cromatografía de afinidad para purificar una serie de proteínas antimicrobianas. Con el uso de estas herramientas hemos demostrado que la beta defensina 11 aviar está presente en la clara de huevo y que muestra actividad antimicrobiana. También hemos completado la purificación de la proteína X relacionada con la ovoalbúmina, una proteína que pertenece a la familia de inhibidores de la serin proteasa. Sin embargo, no tiene actividad inhibitoria *in vitro* contra la proteasa, como su homólogo ovoalbúmina. Su actividad antimicrobiana está actualmente bajo investigación. Paralelamente, en la producción en bacterias de ovocalixinas 32 y 36 recombinantes, dos proteínas específicas de la cáscara del huevo, se están utilizando para explorar sus propiedades funcionales en las propiedades mecánicas y antimicrobianas de la cáscara del huevo.

Estos enfoques han establecido que, además de los componentes principales de cada compartimento del huevo también contiene hasta 10 veces más componentes de los que se habían caracterizado hasta ahora y que algunas de estas proteínas menores podrían desempeñar un papel importante en las defensas naturales de los huevos.

El próximo paso para que RESCAPE logre su objetivo es identificar la variación fenotípica y genotípica que controla las defensas antimicrobianas del huevo.

Para lograr este objetivo, aspiramos a asociar variantes de genes que se piensa que son antimicrobianos, tales como la ovoalbúmina X y la beta defensina 11 aviar, con la capacidad de la clara de huevo para prevenir el crecimiento microbiano. Para determinar si los genes presentes en la clara de huevo son realmente antimicrobianos y cómo de efectivos, es necesario desarrollar ensayos para analizarlos y cuantificarlos y determinar sus actividades enzimáticas, especialmente la actividad proteasa y anti-proteasa. Hemos demostrado un efecto negativo de la temperatura —a 37°C— y el tiempo de almacenamiento —14 días— sobre el potencial anti-proteasa de la clara de huevo. Este descenso coincidió con una menor actividad antimicrobiana frente a *Salmonella*. Además, la medición directa de defensinas y otras posibles proteínas antimicrobianas están en desarrollo

para correlacionar cualquier variación en la concentración de proteínas en muestras de clara de huevo con actividad antimicrobiana.

En un esfuerzo por asociar a la actividad antimicrobiana de la clara de huevo con la variación de las proteínas presentes en la clara de huevo, hemos recopilado datos de crecimiento de *Salmonella* en clara de huevos de alrededor de 2000 animales reproductores de una población comercial —ISA Hendrix—. La heredabilidad de los rasgos se estimó en 0,15. En estas gallinas, se han descubierto variaciones del polimorfismo de un nucleótido único —SNP—, en 10 genes, incluidas antiproteasas y otras proteínas antimicrobianas conocidas, algunas de las cuales también pueden mostrar variación en el número de copias presentes en el genoma —CNV—. Uno de ellos, es un nuevo gen antimicrobiano y se ha caracterizado como una defensina que parece haberse duplicado recientemente en el linaje del pollo. Todos ellos serán analizados para descubrir si ciertas variantes de genes promueven actividad antimicrobiana.

Otro aspecto de la defensa del huevo lo constituyen sus membranas. Se ha examinado la capacidad de la membrana vitelina para resistir la penetración microbiana y, por tanto, prevenir la colonización de la yema. Los resultados iniciales indicaron que una décima parte de las membranas vitelinas de las gallinas al inicio y mitad de la puesta resistieron la penetración de *Salmonella enteritidis* durante 3 semanas, el típico período de almacenamiento. Sin embargo, aproximadamente la mitad de las membranas vitelinas apenas resistieron la penetración durante 1 semana.

A medida que el proyecto avance, vamos a poder cuantificar la importancia relativa de los diferentes componentes del huevo en la resistencia a la supervivencia y persistencia microbiana. Esto dará lugar a mejoras en el almacenamiento y manipulación y en la selección de las gallinas que pongan huevos resistentes a la proliferación microbiana.

Otro de los objetivos del proyecto RESCAPE es mejorar la seguridad microbiológica de los huevos mediante el desarrollo de técnicas nuevas, no invasivas, para la detección de huevos de riesgo durante su clasificación.

Se investigaron las micro-fisuras superficiales de la cáscara del huevo por medio de técnicas de emisión acústica y métodos de detección láser ultrasónico. En la actualidad, podemos confirmar que las técnicas de vibración no lineales, no son lo suficientemente sensibles como para revelar la presencia de estas pequeñas microfisuras en los huevos.

Se estudió también el efecto de diferentes condiciones de almacenamiento de los huevos sobre mediciones espectrales específicas en el huevo entero, para mejorar aún más esta técnica no invasiva de medición de las propiedades físicas internas del huevo, pero fueron muy poco informativas.

Por último, se están desarrollando actualmente optimizaciones en el sistema de detección de la suciedad desarrollado en KU Leuven para integrar este sistema de visión en el prototipo final, que en última instancia, combinará herramientas de medición acústica y visual en una plataforma de medición.

La viabilidad de utilización de una serie de nuevas técnicas para la descontaminación de los huevos también se está investigando en el proyecto RESCAPE

En un estudio nos hemos centrado en la ampliación a escala de un tratamiento de microondas para la descontaminación del huevo. Un sistema de modelización numérica computerizada, que combina la transferencia de calor conductivo con la disipación de la energía de microondas y la cinética de inactivación de las bacterias, nos está ayudando en la actualidad a evaluar el impacto de este tratamiento en la calidad interna del huevo y la letalidad de este proceso de descontaminación.

También ha sido diseñado un prototipo de pasteurización por aire caliente y, basándose en modelos numéricos validados utilizando un huevo equipado con termopares, se ha seleccionado un tratamiento óptimo de dos exposiciones de 8 s a 600°C con un intervalo de 32 s de aire frío. En nuestros experimentos hemos demostrado que estos ciclos térmicos redujeron la contaminación tanto por *S. enteritidis* como *L. monocytogenes* en más de un 90% sin ningún tipo de deterioro en la calidad del huevo. Un enfoque molecular basado en el ADN —PCR EMA—, está siendo utilizada en estos experimentos para aumentar la sensibilidad de la recuperación microbiana de todas las células viables —tanto células lesionadas por calor cultivables como no cultivables—. Esto nos ayuda a distinguir células viables de muertas en los tres cultivos de *S. enteritidis* estresados por calor que se utilizan en nuestros experimentos.

Dos exposiciones de 8 s a 600°C redujeron la contaminación tanto por *S. enteritidis* como *L. monocytogenes* en más de un 90 %

Además de estos métodos, ahora tenemos dos prototipos de esterilización por gas plasma en funcionamiento, uno de ellos para tratamientos de gran volumen y otro para un solo huevo. Ambos generan volúmenes relativamente grandes de plasmas a baja temperatura, sin equilibrio, a presión atmosférica. Ambos prototipos tienen buena potencia de descontaminación de *Salmonella Enteritidis* PT8 —MB2509— deliberadamente inoculado en la superficie de la cáscara, que dan lugar a reducciones de la carga celular que oscilan entre 1 y 5 log₁₀ UFC/cáscara en función del tiempo de tratamiento.

También hemos estado examinando los efectos de una serie de técnicas de envasado con atmósfera modificada —MAP— sobre huevos inoculados con *Salmonella Enteritidis*. Estos hasta ahora han tenido poco efecto sobre la descontaminación de los huevos. El poder de descontaminación de la tecnología MAP a diferentes condiciones de temperatura durante un periodo de 45 días está siendo investigado mediante huevos contaminados con *S. enteritidis* y otros agentes patógenos. Curiosamente los resultados de las determinaciones físico-químicas mostraron que la exposición de huevos frescos a atmósferas enriquecidas con CO₂ podría representar un método natural para disminuir el pH de la albúmina del huevo y, por tanto, cambiar las propiedades reológicas de la albúmina coagulada por calor y espuma.

Se ha desarrollado un nuevo método de selección de tipo quitosán a ser utilizado como revestimiento antimicrobiano de los huevos. Este método se asemeja a la aplicación práctica sobre la cáscara del huevo más cercana, ya que el quitosán es atrapado en una sólida película. La selección del tipo quitosán se basó en su actividad antimicrobiana frente a *Salmonella Enteritidis*. Ya han sido probadas tres concentraciones de cuatro diferentes tipos de quitosán. En la próxima fase del proyecto serán aplicados los apropiados tipos y concentraciones.

Se ha desarrollado un nuevo método de selección de tipo quitosán a ser utilizado como revestimiento antimicrobiano de los huevos. Este método se asemeja a la aplicación práctica sobre la cáscara del huevo más cercana, ya que el quitosán es atrapado en una sólida película. La selección del tipo quitosán se basó en su actividad antimicrobiana frente a *Salmonella Enteritidis*. Ya han sido probadas tres concentraciones de cuatro diferentes tipos de quitosán. En la próxima fase del proyecto serán aplicados los apropiados tipos y concentraciones.

Pueden obtenerse más detalles sobre el proyecto RESCAPE visitando <http://www.rescape-project.eu> o enviando un correo electrónico al coordinador Dr. Yves Nys en nys@tourS.inra.fr