



Epidemiología de *Salmonella spp.* en cerdos de engorde

Marta González Clari

Director: Dr. Manuel Lainez Andrés
Director: Dr. Santiago Vega Garcia
Directora: Dra. Clara Marín Orenga

Valencia, 2014



Este trabajo de investigación se ha realizado gracias a la Beca clase B "Epidemiología Veterinaria" adjudicada a D^a Marta González Clari por Resolución de la Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación (DOGV núm. 5.447).



MANUEL LÁINEZ ANDRÉS, DIRECTOR DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS (INIA) Y DOCTOR INGENIERO AGRÓNOMO POR LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA; SANTIAGO VEGA GARCÍA, DECANO DE LA FACULTAD DE VETERINARIA CEU-CARDENAL HERRERA Y DOCTOR EN VETERINARIA POR LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID; CLARA MARÍN ORENGA, DOCTORA EN VETERINARIA POR LA UNIVERSIDAD CEU-CARDENAL HERRERA Y PROFESORA EN LA FACULTAD DE VETERINARIA CEU-CARDENAL HERRERA EN EL ÁREA DE SALUD ANIMAL Y SALUD PÚBLICA VETERINARIA

INFORMAN:

Que la Tesis Doctoral titulada **“EPIDEMIOLOGÍA DE *Salmonella spp.* EN CERDOS DE ENGORDE”** de la que es autora Marta González Clari, Licenciada en Veterinaria, ha sido realizada bajo nuestra dirección en el Área de Salud Animal y Salud Pública Veterinaria, y reúne las condiciones científicas y formales para ser presentada ante el tribunal correspondiente a fin de obtener el Grado de Doctor.

Y para que conste se firma el presente en Alfara (Valencia) a de de 2014.

Fdo. Manuel Láinez Andrés

Santiago Vega García

Clara Marín Orenga

Si el Señor no construye la casa,
en vano se cansan los constructores.
Si el Señor no guarda la ciudad,
en vano vigilan los centinelas.

En vano madrugáis al levantaros,
el descanso retrasáis por conseguir el pan.
¡Dios lo da a sus amigos mientras duermen!

Don del Señor son los hijos.
Son como flechas en manos de un guerrero
los hijos de la juventud.

¡Dichoso el hombre que tiene llena su aljaba!
No temerá cuando lleguen
a su puerta los enemigos.

Salmo 126

Esta tesis está dedicada a mi familia.

Para empezar, me gustaría quitarme el mérito de esta tesis y decir que ha sido un MILAGRO. Un milagro en el que el Señor me ha enviado muchos ángeles dispuestos a darlo todo por nada, simplemente mi más humilde agradecimiento. Esos ángeles son mi familia.

En primer lugar, mi **marido** Llorenç, el apoyo inmediato, incondicional, el que cuando yo no veía nada, él lo veía todo.

En segundo lugar, mis tres **hijos** Marta, Llorenç y Joan Pau, cada uno de ellos ha sido necesario e imprescindible para la elaboración de esta tesis. Estando embarazada de Martita de siete meses defendí ante un tribunal el DEA. Nada más nacer Llorenç presenté el proyecto de tesis. Y tan sólo un mes después de nacer Joan Pau terminé de perfilar este documento. Los tres me han aportado energía, alegría, felicidad, ganas de hacerlo bien... todo cualidades importantísimas para llevar a cabo este proyecto.

En tercer lugar, a mis **padres** Bernardo y Concha, que siempre han estado al pie del cañón. En mis estudios, en los viajes a las explotaciones y mataderos (más de una vez me acompañó mi madre), cuidando de los niños para que yo pudiera avanzar con la tesis... Muchas gracias por todo vuestro apoyo.

Y al resto de la familia (imposible nombrar a todos) que de una forma u otra me han ayudado a llevar adelante esta tesis.

También quería agradecer al “equipo *Salmonella*” del Centro de Investigación y Tecnología Agraria de Segorbe (CITA). A Maria, Hugo y Ana por su entrega y disponibilidad en el trabajo de campo, tanto para preparar material como para recoger muestras y analizarlas.

A las empresas propietarias de los cerdos, veterinarios, propietarios de las explotaciones y granjeros, por recibirme con los brazos abiertos y haberme permitido recoger muestras en sus instalaciones.

Por último, a mis directores de tesis, Manuel Láinez, Santiago Vega y Clara Marín. Por su ayuda, paciencia y disponibilidad. Para ellos sólo puedo tener palabras de agradecimiento.

A todos ellos, muchas gracias.

RESUMEN

Salmonella spp. es descrita como la principal causa de los brotes declarados de toxiinfecciones alimentarias. Y la carne de cerdo es una de las principales fuentes de salmonelosis humana de origen alimentario. Debido a que el sector porcino es un sector importante de producción en España, se ve la necesidad de establecer programas de control para *Salmonella* con el fin de evitar importantes pérdidas económicas en el futuro. De forma previa a la publicación de la prevalencia de *Salmonella* en cerdos de cebo (EFSA, 2008) y al establecimiento de los objetivos comunitarios para el control de *Salmonella* en explotaciones porcinas, se han realizado estudios para estimar la situación de *Salmonella* en la producción porcina de España. En este sentido, la Concejalía de Agricultura, Pesca y Alimentación financió el presente proyecto de investigación para el estudio de las principales fuentes de contaminación de *Salmonella* en las explotaciones porcinas de la Comunidad Valenciana y el estudio de la epidemiología de *Salmonella* en condiciones de campo. Dichos estudios fueron planificados para anticipar el Programa Nacional de Control de *Salmonella* en la producción porcina, con el objetivo de aplicar medidas adecuadas en línea con los futuros objetivos comunitarios. Este estudio empezó en abril de 2007 y se terminó en noviembre de 2009. En este periodo de dos años, se muestrearon 89 lotes de cerdos pertenecientes a 51 explotaciones porcinas de engorde de la Comunidad Valenciana.

Se analizaron un total de 3.255 muestras mediante la técnica microbiológica de referencia ISO 6579:2002 (Anexo D) y las muestras positivas fueron serotipadas mediante la técnica de Kauffman-White-Le-Minor. El 20,7% de las muestras, que fueron recogidas en diferentes momentos del ciclo productivo de los cerdos, resultaron positivas a *Salmonella spp.* y el mayor número de muestras positivas se observó en otoño.

Se evaluó la limpieza y desinfección en los 89 lotes pertenecientes a explotaciones porcinas de engorde de la Comunidad Valenciana frente a *Salmonella*, permaneciendo positivas el 70,8%, tras la limpieza y desinfección, en alguna de las muestras recogidas. Las muestras más contaminadas fueron los restos de heces del lote anterior, la superficie del pasillo y la superficie de la tolva.

En 47 de esos lotes se realizó una monitorización a lo largo de todo el ciclo productivo y se cumplimentaron unas encuestas epidemiológicas con el objetivo de describir las características más importantes de las explotaciones estudiadas, así como su posible relación con el estatus de contaminación de *Salmonella* en los lotes de los cerdos y de la explotación al final del periodo de engorde. Se determinaron las principales fuentes de contaminación: las heces de los cerdos, las superficies del corral y del pasillo, las manos y botas del granjero, el polvo y los vectores. El serotipo aislado con mayor frecuencia fue *S. Typhimurium*. Además, se analizaron los principales factores de riesgo para la contaminación en heces de *Salmonella* de los lotes de cerdos

al final del periodo de engorde: el estatus de contaminación en heces de *Salmonella* del lote anterior, la superficie del corral antes de la limpieza y desinfección tras la salida del lote anterior y la superficie de la tolva a la entrada de los lechones en la explotación.

Tras analizar la detección de *Salmonella* en heces a lo largo del periodo de engorde de los 47 lotes de cerdos se observó que, independientemente de si los lotes llegaban a la granja excretando la bacteria en heces o si se infectaban durante el periodo de engorde, presentaban un porcentaje similar de detección de *Salmonella* a partir del mes y medio de la entrada en la explotación y experimentaban un aumento justo a la salida (70,8% y 55,0%, respectivamente). El patrón de los serotipos más prevalentes en heces varió a lo largo del periodo de engorde.

Por otro lado, se analizó el transporte a matadero en la detección de *Salmonella* en heces. Se observó que la presencia de camiones contaminados con la bacteria incrementó la detección de *Salmonella* en heces de un 60% a un 80%. El patrón de los serotipos aislados durante el periodo de engorde cambió después del transporte a matadero.

Además, se analizaron las instalaciones de los mataderos estudiados. En el 100% de las visitas a las instalaciones al menos una muestra de corral o de pasillo resultó positiva a *Salmonella*.

Por último, se determinó la capacidad de desarrollo de *biofilm* de las cepas aisladas en el estudio de la limpieza y desinfección. El 69,0% de las cepas mostró la capacidad de producir *biofilm*. Además, se evaluaron los desinfectantes utilizados y se observó que el desinfectante cuyo principio activo es el glutaraldehído resultó el menos eficaz frente a estas cepas productoras de *biofilm*.

ABSTRACT

Salmonella spp. is described as the leading cause of reported outbreaks of food poisoning. And pork is one of the main sources of human foodborne salmonellosis. Because the pig sector is an important sector of production in Spain, is the need to establish monitoring programs for *Salmonella* in order to avoid major economic losses in the future. Previously to the publication of the prevalence of *Salmonella* in finishing pigs (EFSA, 2008) and the establishment of the Community objectives for the control of *Salmonella* in pork production, studies were performed to estimate the status of *Salmonella* in pig production of Spain. In this regard, the Department of Agriculture, Fisheries and Food funded this research project for the study of the main sources of contamination of *Salmonella* in pig farms of Valencia and the study of the epidemiology of *Salmonella* in field conditions. These studies were planned to anticipate the National Programme for Control of *Salmonella* in swine production, in order to apply appropriate solutions according to future EU targets. This study began in April 2007 and was completed in November 2009. During this period of two years, 89 batches of pigs belonging to 51 fattening pig farms Valencia were sampled.

A total of 3,255 samples were analyzed by microbiological reference technique ISO 6579:2002 (Annex D) and positive samples were serotyped by the technique of Kauffman-White-Le-Minor. 20.7% of the samples, which were collected at different times of the production cycle of pigs were positive for *Salmonella* spp. and the largest number of positive samples was observed in autumn.

Cleaning and disinfection was evaluated in all 89 batches of a fattening pig farms in Valencia against *Salmonella*, 70.8% remained positive after cleaning and disinfection, in any of the samples. The most contaminated samples were the remains of feces previous batch, the gangway surface and the surface of the hopper.

In 47 of these agent, a monitoring throughout the entire production cycle was performed and some epidemiological surveys were completed in order to describe the most important characteristics of the studied farms and their possible relation to the status of contamination of *Salmonella* in lots of pigs and exploitation at the end of the fattening period. The main sources of pollution were identified: the faeces of pigs, poultry and surfaces of the hall, hands and boots of the farmer, dust and vectors. The most frequently isolated serotype was *S. Typhimurium*. Moreover, the major risk factors for *Salmonella* contamination in feces of lots of pigs at the end of the fattening period were analyzed: the status of fecal contamination of *Salmonella* previous batch, pen area before cleaning and disinfection after the departure of the previous batch and the surface of the hopper to the inlet of piglets on the farm.

After analyzing the detection of *Salmonella* in feces throughout the fattening period of 47 batches of pigs was observed that regardless of whether the lots came to

the farm to excrete the bacteria in stool or if infected during the fattening period, had a similar percentage of *Salmonella* from the month and a half from the entrance on the farm and were experiencing right off (70.8% and 55.0%, respectively) increase. The pattern of the most prevalent serotypes in feces ranged along the fattening period.

Furthermore, transportation to the slaughterhouse in the detection of *Salmonella* in feces was analyzed. It was observed that the presence of bacteria contaminated trucks increased faecal *Salmonella* 60% to 80%. The pattern of serotypes isolated during the fattening period changed after transport to slaughter.

In addition, slaughter facilities studied were analyzed. In 100% of site visits at least one sample of poultry or hallway tested positive for *Salmonella*.

Finally, the ability of biofilm development of strains isolated in the study of the cleaning and disinfection was determined. 69.0% of the strains were able to produce biofilm. Furthermore, the disinfectants used were evaluated and it was observed that the active substance disinfectant glutaraldehyde was less effective against biofilm these producing strains.

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. ASPECTOS GENERALES DE <i>SALMONELLA</i> SPP.....	3
1.1.1. Contexto histórico de <i>Salmonella</i>	3
1.1.2. Características del género <i>Salmonella</i>	5
1.1.2.1. Características morfológicas y bioquímicas.....	5
1.1.2.2. Ecología.....	6
1.1.3. Taxonomía.....	7
1.1.3.1. Clasificación en la actualidad.....	7
1.1.3.2. Nomenclatura.....	8
1.1.4. Detección, identificación y caracterización del género <i>Salmonella</i> en la producción porcina.....	8
1.1.4.1. Técnicas bacteriológicas.....	9
1.1.4.2. Técnicas inmunoenzimáticas aplicadas al diagnóstico bacteriológico.....	10
1.1.4.3. Caracterización fenotípica.....	11
A) Perfil bioquímico.....	12
B) Serotipado.....	12
C) Fagotipado.....	14
D) Antibiorresistencia.....	15
1.1.4.4. Caracterización genotípica.....	16
A) Técnicas moleculares.....	16
B) Métodos genéticos.....	17
1.2. IMPORTANCIA DEL SECTOR PORCINO.....	17
1.2.1. El sector porcino a nivel mundial.....	17
1.2.2. El sector porcino a nivel europeo.....	23
1.2.3. El sector porcino a nivel nacional.....	26
1.2.4. El sector porcino en el ámbito social y económico.....	29
1.3. EPIDEMIOLOGÍA DE <i>SALMONELLA</i> SPP.....	30
1.3.1. Importancia de <i>Salmonella</i> en el ser humano.....	30
1.3.1.1. Aspectos clínicos.....	30
1.3.1.2. Prevalencias de <i>Salmonella</i> en el ser humano.....	32
A) La salmonelosis en el mundo.....	32
B) La salmonelosis en la Unión Europea.....	33
C) La salmonelosis en España.....	37
1.3.1.3. La salmonelosis en el ámbito social y económico.....	40
1.3.1.4. Alimentos implicados en los brotes de salmonelosis.....	41
1.3.1.5. Marco legislativo comunitario y nacional.....	44

1.3.2. Importancia de la presencia de <i>Salmonella</i> en el sector porcino.....	46
1.3.2.1. La salmonelosis en el cerdo.....	48
A) Epidemiología.....	48
B) Transmisión.....	50
C) Patogenia.....	50
D) Manifestaciones clínicas.....	51
1.3.2.2. Prevalencias de <i>Salmonella</i> en el sector porcino.....	53
A) La salmonelosis porcina en la Unión Europea.....	53
B) La salmonelosis porcina en España.....	60
1.3.2.3. Principales fuentes de contaminación de <i>Salmonella</i> en el sector porcino.....	62
A) Limpieza y desinfección.....	62
B) Cerdos portadores asintomáticos.....	62
C) Pienso.....	63
D) Agua.....	65
E) Manos y botas del granjero y visitas.....	65
F) Vectores.....	66
G) Otros factores.....	67
1.3.2.4. Distribución y dinámica de excreción de <i>Salmonella</i> en la pira.....	69
1.3.2.5. Persistencia de <i>Salmonella</i> en la producción porcina.....	73
1.4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	76
2. OBJETIVOS.....	79
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	83
3.1. DISEÑO EPIDEMIOLÓGICO.....	85
3.1.1. Diseño del estudio.....	85
3.1.2. Selección de los lotes a investigar.....	88
3.2. ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA.....	89
3.3. EPIDEMIOLOGÍA DE <i>SALMONELLA</i> EN EL CERDO DE ENGORDE.....	90
3.3.1. Estudio de las principales fuentes de contaminación de <i>Salmonella</i> spp. en explotaciones porcinas de engorde.....	90
3.3.1.1. Estudio de la limpieza y desinfección frente a <i>Salmonella</i>	91
3.3.1.2. Estudio de las principales fuentes de contaminación de <i>Salmonella</i> durante el periodo de engorde.....	97
3.3.2. Estudio de la dinámica de detección de <i>Salmonella</i> spp. en heces a lo largo del periodo de engorde y tras el transporte a matadero.....	102

3.3.3. Estudio de la capacidad de desarrollo de <i>biofilm</i> de las cepas de <i>Salmonella</i> spp. aisladas en las explotaciones porcinas.....	104
3.4. ANÁLISIS LABORATORIAL.....	105
3.4.1. Preenriquecimiento en medio líquido no selectivo.....	105
3.4.2. Enriquecimiento selectivo en medio semisólido.....	105
3.4.3. Siembra en dos medios sólidos selectivos e indicativos.....	106
3.4.4. Confirmación bioquímica.....	107
3.4.5. Serotipado.....	109
3.4.6. Análisis de la capacidad de desarrollo de <i>biofilm</i>	109
3.4.7. Almacenamiento de cepas.....	110
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	110
3.5.1. Análisis estadístico de las encuestas epidemiológicas.....	110
3.5.2. Análisis estadístico de las muestras tomadas a lo largo del estudio.....	111
4. RESULTADOS.....	113
4.1. CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO.....	115
4.1.1. Análisis de la Encuesta Epidemiológica.....	116
4.2. DETECCIÓN DE <i>SALMONELLA</i> SPP. EN LAS EXPLOTACIONES PORCINAS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA.....	124
4.2.1. Contaminación ambiental de <i>Salmonella</i> en las explotaciones porcinas durante el periodo de engorde.....	125
4.2.2. Detección de <i>Salmonella</i> en heces a lo largo del periodo de engorde de porcino y tras su transporte a matadero.....	133
4.3. CAPACIDAD DE DESARROLLO DE <i>BIOFILM</i> DE LAS CEPAS DE <i>SALMONELLA</i> AISLADAS EN EXPLOTACIONES PORCINAS.....	139
5. DISCUSIÓN.....	145
5.1. INTRODUCCIÓN.....	147
5.2. ANÁLISIS DE LA ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA	147
5.3. DETECCIÓN DE <i>SALMONELLA</i> EN LAS EXPLOTACIONES PORCINAS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA.....	153
5.3.1. Contaminación ambiental de <i>Salmonella</i> en las explotaciones porcinas durante el periodo de engorde.....	153

5.3.2.	Detección de <i>Salmonella</i> en heces a lo largo del periodo de engorde de porcino y tras su transporte a matadero.....	158
5.4.	CAPACIDAD DE DESARROLLO DE <i>BIOFILM</i> DE LAS CEPAS DE <i>SALMONELLA</i> AISLADAS EN EXPLOTACIONES PORCINAS.....	163
6.	CONCLUSIONES.....	167
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	171
8.	GLOSARIO DE ABREVIATURAS.....	201
9.	GLOSARIO DE FIGURAS Y TABLAS.....	205
9.1.	GLOSARIO DE FIGURAS.....	207
9.2.	GLOSARIO DE TABLAS.....	210
10.	GLOSARIO DE IMÁGENES.....	213
11.	ANEXO 1: Encuesta epidemiológica	217

1.INTRODUCCIÓN

1.1. ASPECTOS GENERALES DE *SALMONELLA* SPP.

1.1.1. Contexto histórico de *Salmonella*

Salmonella es una bacteria que fue observada inicialmente en 1880 por el científico Carl Joseph Eberth (1835-1926). Este patólogo y bacteriólogo alemán observó dicha bacteria en cortes histológicos de muestras de bazo y nódulos linfáticos mesentéricos procedentes de personas fallecidas por la denominada “fiebre tifoide”. Eberth adquirió relevancia en el mundo científico al descubrir el bacilo de la fiebre tifoidea (*Salmonella typhosa*) en estos fallecidos, que pronto fue llamada *Eberthella typhosa* en su honor. En 1879 estudió 23 casos de fiebre tifoidea y encontró los característicos microorganismos en forma de barra en 12 de ellos. A pesar de que está considerado como el descubridor del bacilo de este tipo de fiebre, el microorganismo no fue en realidad aislado y cultivado hasta 1884, cuando un alumno de Robert Koch (1843-1910) logró cultivarlo.



Imagen 1.1: Carl Joseph Eberth

Salmonella fue inicialmente descrita por Daniel Elmer Salmon (1850-1914) y Theobald Smith (1859-1934) en el año 1885 a partir de una cepa aislada de cerdo con Peste porcina clásica o *Swine plague* (Smith, 1891). Salmon denominó a esta cepa como *hog-cholera bacilli*, actualmente conocida por el nombre de *Salmonella Choleraesuis*. No obstante, a principios del siglo XX se descubrió el virus verdaderamente causante de la Peste Porcina Clásica, por lo que esta bacteria que se consideraba el agente causante de la peste porcina fue considerada como un agente secundario de la enfermedad (Marthedal, 1960).

De todas estas investigaciones surgió un grupo de bacterias, conocidas originalmente como bacterias tífica y paratífica (TPC o bacilos paratíficos). Comprendían el bacilo tífico, la *Salmonella typhi* y también "C", un bacilo causante de una forma de disentería, denominado así por el bacteriólogo japonés Kiyoshi Shiga (1871-1957).

En 1888 se aisló en Alemania la primera bacteria de *Salmonella* procedente de una intoxicación alimentaria, *Bacterium enteritidis*. La bacteria se aisló de una vaca sacrificada de emergencia después de que 58 personas enfermaran tras ingerir carne de ternera. Poco tiempo después, *Bacterium typhimurium* (originalmente *B. aertrycke*) fue aislada en una aldea belga del mismo nombre a partir de un ratón muerto en un laboratorio por un proceso diarreico (Barrow, 1993; Marthedal, 1960).

En 1900 el bacteriólogo francés Joseph Léon Marcel Lignières (1868-1933) sugirió que el grupo de todas estas bacterias se llamara *Salmonella* en honor a Daniel Elmer Salmon.



Imagen 1.2: Daniel Elmer Salmon

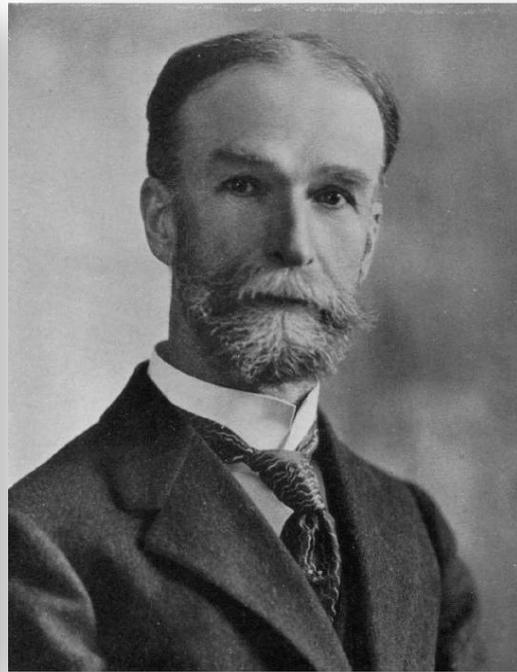


Imagen 1.3: Theobald Smith

1.1.2. Características del género *Salmonella*

1.1.2.1. Características morfológicas y bioquímicas

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, cuyos miembros se caracterizan por ser bacilos Gram-negativos, anaerobios facultativos, móviles, no esporulados y con flagelos peritricos (Bergey y Holt, 1994). *S. Gallinarum* y *S. Pullorum* son dos excepciones, puesto que no son móviles.

La velocidad de crecimiento de *Salmonella* depende de varios factores, entre los que se incluyen la temperatura, el pH, la actividad de agua y los nutrientes, así como las interacciones entre ellos (Van de Giessen, 1996). Estas características son importantes para su cultivo e identificación.

La temperatura óptima para *Salmonella spp.* es 37°C, aunque puede crecer entre los 10 y los 45°C. Entre 0 y 5°C, las bacterias permanecen viables aunque no hay crecimiento (Bowmer, 1965). Sin embargo, hay una marcada reducción en el número de bacterias durante la congelación y el almacenamiento congelado durante largos periodos, aunque no son destruidas totalmente (D'Aoust, 1991). Se puede acabar con *Salmonella* cuando se expone a temperaturas de 55°C durante una hora o 60 °C durante 15 a 20 minutos (Bowmer, 1965). Por tanto, destruiremos la bacteria al cocinar los alimentos si la temperatura interna de dicho alimento alcanza los 74-77°C.

El pH óptimo para el crecimiento de *Salmonella* se encuentra entre 6,5 y 7,5, con posibilidades de crecimiento con un intervalo de pH entre 4,5 y 9,0. Valores de pH por encima o por debajo producen la muerte de las bacterias (Baird-Parker, 1991).

Salmonella spp. crece en alimentos con valores de actividad de agua del 0,93 (Baird-Parker, 1991), aunque el valor óptimo se sitúa en 0,995. No crece en valores inferiores a 0,93, aunque el tiempo de supervivencia puede durar meses. Sobrevive a la refrigeración, a la congelación y a ambientes secos.

Casi todos los medios de cultivo proporcionan las fuentes necesarias de carbono y nitrógeno para el crecimiento de *Salmonella spp.*, puesto que sus requerimientos para crecer son relativamente simples. La viabilidad de los cultivos puede mantenerse durante muchos años en medios sencillos, tales como el agua de peptona y el agar nutritivo (Shulman *et al.*, 1999).

Las bacterias del género *Salmonella* poseen las características bioquímicas generales de las enterobacterias: son fermentadoras de la glucosa y otros carbohidratos con la producción de ácido y normalmente gas, son catalasa positivo y oxidasa negativo.

La mayoría de salmonelas son aerogénicas; sin embargo, *S. Typhi* y algunos otros serotipos nunca producen gas (Bergey y Holt, 1994).

Otras propiedades bioquímicas importantes que pueden diferenciarla del resto de enterobacterias son: la producción de ácido sulfhídrico, la actividad lisind Descarboxilasa, la actividad ornitind Descarboxilasa, la capacidad de crecimiento en agar citrato de Simmons, la no producción de indol y la incapacidad de hidrolizar la urea (Cotrubo *et al.*, 2004).

Salmonella es sensible a la radiación gamma (Clavero *et al.*, 1994) y a los ácidos orgánicos (Smulders, 1987). Los desinfectantes comunes como fenoles, clorados y yodados son eficaces frente a *Salmonella spp.*

1.1.2.2. Ecología

El principal hábitat de *Salmonella* es el tracto intestinal de los vertebrados, incluido el hombre, y se comportan como parásitos intracelulares facultativos (European Food Safety Authority (EFSA), 2013). Los principales reservorios son los animales de abasto (tanto de carne roja como aves) y en menor medida las aves silvestres, roedores, insectos, peces, moluscos, tortugas y reptiles. También aparecen en alimentos y en el ambiente.

Aunque existen algunos serotipos especialmente adaptados a determinados hospedadores, como por ejemplo *S. Typhi* (hombre), *S. Abortus ovis* (oveja) o *S. Gallinarum* (aves), entre otros, la mayoría de serotipos se caracteriza por su naturaleza ubicuitaria, pudiendo sobrevivir en un amplio rango de especies. En la especie porcina, el cerdo puede ser infectado por un serotipo adaptado a él que se denomina *Salmonella Choleraesuis* (*S. Choleraesuis*) pero también por muchos otros serotipos no específicos de especie, principalmente *S. Typhimurium*, aunque también cabe destacar los serotipos Rissen, Derby y Anatum, entre otros.

Esta amplia distribución por la naturaleza se debe a que son bacterias resistentes a condiciones ambientales adversas y muy poco exigentes en sus requisitos nutricionales. Esto les permite un rápido crecimiento y capacidad de colonización en ambientes muy diversos, entre ellos el agua y los alimentos. El hecho de que puedan vivir y multiplicarse tanto en el medio ambiente, de forma libre, como en los animales e incluso en el interior de las células les confiere una extraordinaria capacidad de adaptación y ubicuidad.

La transmisión de la bacteria a los seres humanos suele ocurrir cuando los organismos son introducidos en las áreas de preparación de comida y se permite su multiplicación en ella. Esto ocurre, por ejemplo, debido a almacenamientos a temperaturas inadecuadas, modos de cocinar inadecuados o contaminaciones cruzadas en alimentos listos para consumir. El organismo también puede transmitirse por contacto directo con animales o personas infectadas o ambientes contaminados con heces (EFSA, 2013).

1.1.3. Taxonomía

1.1.3.1. Clasificación en la actualidad

Durante años ha sido una controversia la clasificación de *Salmonella*. En el 2005, Tindall *et al.* proporcionan una lista de nombres que deberían ser utilizados según la reciente resolución de la Comisión Judicial (*Judicial Commission of the International Committee on Systematics of Prokaryotes*, 2005) junto con la interpretación taxonómica de Le Minor y Popoff (1987) y Reeves *et al.* (1989). Según esta última nomenclatura, que refleja los avances existentes en la taxonomía de *Salmonella*, el género *Salmonella* consiste en dos especies:

- *Salmonella bongori*.
- *Salmonella enterica*.

A su vez, *Salmonella enterica* se divide en seis subespecies:

- *Salmonella enterica subesp. arizonae*.
- *Salmonella enterica subesp. diarizonae*.
- *Salmonella enterica subesp. enterica*.
- *Salmonella enterica subesp. houtenae*.
- *Salmonella enterica subesp. indica*.
- *Salmonella enterica subesp. salamae*.

En Mayo del 2004, Shelobolina *et al.* proponen el nombre *Salmonella subterranea* para una nueva cepa aislada, siendo publicado como válido en Marzo de 2005 y por tanto, añadido a la lista anteriormente citada.

Actualmente, se sigue utilizando tanto este sistema como el antiguo, puesto que ambos sistemas son válidos. Aún así, la clasificación más utilizada por la mayoría de los autores es la proporcionada por Tindall *et al.* (2005). En cualquier caso, se debe evitar mezclar ambos sistemas en un mismo documento (Euzéby, J.P., 2012).

Desde que, en 1929, Kauffmann introdujo el método para el análisis antigénico del grupo de bacterias denominado *Salmonella*, se han identificado más de 2500 serotipos diferentes en el caso de *Salmonella enterica subesp. enterica*, subespecie que agrupa la mayoría de salmonelas y la única que afecta al hombre y a los animales de sangre caliente (Popoff y Le Minor, 2001; WHO, 2005). En base a la caracterización de su fórmula antigénica, se establecen una serie de serotipos (o serovares) que permiten identificar las bacterias aisladas por debajo del nivel de subespecie. Dicha

fórmula surge de la combinación de los antígenos somáticos o de pared bacteriana (O) y los antígenos flagelares (H), como explicaremos en detalle más adelante.

1.1.3.2. Nomenclatura

Cada serotipo recibe una denominación de uso común que está relacionada con su fórmula antigénica. Con el fin de agilizar la transcripción de los serotipos, Le Minor y Popoff (1987) proponen que el serotipo se escriba en letra no cursiva y se inicie con letra mayúscula, además del acortamiento del nombre. Por ejemplo, *Salmonella enterica* subesp. *enterica* serotipo Typhimurium se convierte en *Salmonella* serotipo Typhimurium o simplemente, *Salmonella* Typhimurium. Otros serotipos de esta misma subespecie deben su nombre a la localización geográfica dónde apareció el brote, como por ejemplo, *Salmonella* Montevideo o *Salmonella* Ohio.

El hecho de no nombrar la especie no puede ser objeto de confusión puesto que sólo tienen nombre los serotipos de la subespecie *Salmonella enterica* subesp. *enterica*.

Es aconsejable tener en cuenta que el uso de la nomenclatura abreviada prohíbe la abreviación del nombre del género (*Salmonella* = *S.*) porque dicha abreviación sólo se permite cuando va seguida del nombre de la especie (Euzéby, J.P., 2012)

1.1.4. Detección, identificación y caracterización del género *Salmonella* en la producción porcina

Existen, principalmente, dos opciones para llevar a cabo un plan de monitorización con el objetivo de evaluar la prevalencia de *Salmonella* y la exposición previa a *Salmonella* en la producción porcina (EFSA, 2006). Estas opciones están basadas en métodos bacteriológicos e inmunológicos. Cuando estas dos técnicas son utilizadas con el objetivo de monitorizar, los resultados de ambas no pueden ser comparados directamente, ya que nos dan información diferente. La elección entre inmunología y bacteriología, o su uso combinado, dependerá de la situación actual y de las cuestiones a resolver.

En términos generales, la prevalencia bacteriológica da información sobre la proporción de animales que excretan activamente la bacteria en heces. En cambio, la seroprevalencia se basa en la detección mediante ELISA de anticuerpos específicos contra *Salmonella*, indicando el contacto previo de los animales con la infección, sin tener que estar necesariamente infectados en ese mismo momento.

1.1.4.1. Técnicas bacteriológicas

Tradicionalmente, el cultivo bacteriológico y la posterior identificación bioquímica han sido los métodos más usados para el diagnóstico del bacilo Gram-negativo *Salmonella* spp. (Nielsen y Baggesen, 1997).

Los métodos bacteriológicos expresan el actual estatus de infección que presenta el animal, incluyendo la transmisión o reciente contaminación. Dichos métodos detectan todos los serotipos. El actual o los actuales agentes infecciosos serán aislados, lo que permite una caracterización que va más allá de la determinación positiva o negativa de la muestra; es posible, por ejemplo, determinar el serotipo o realizar un perfil de resistencia antimicrobiana. El único inconveniente es que el proceso analítico es laborioso.

Por tanto, la bacteriología puede ser usada cuando se necesita aislar la cepa para su identificación, cuando se requiere información sobre todas las infecciones de *Salmonella* (todos los serotipos), cuando se requiere una prueba de sensibilidad antimicrobiana, cuando se quiere determinar el estado actual de *Salmonella* en animales individuales, cuando el objetivo de la investigación es una descripción de la variedad de infecciones con diferentes serotipos de *Salmonella* que hay en una población y cuando se requiere la evaluación del estatus de *Salmonella* en explotaciones (EFSA, 2006).

Los métodos bacteriológicos incluyen varios pasos fundamentales (Anexo D, ISO 6579:2002), que vamos a revisar a continuación:

- *Pre-enriquecimiento en un medio líquido no selectivo*

Salmonella spp. tiene unos requerimientos nutricionales muy sencillos, como se ha comentado anteriormente. Sin embargo, el aislamiento de la bacteria a partir de muestras como el alimento, muestras ambientales o de animales tratados que contienen un número bajo de salmonelas o bacterias poco viables, puede ser difícil. En estos casos se sugiere el pre-enriquecimiento con agua de peptona tamponada, por ejemplo (Aho, 1992; Van de Giessen, 1996). En el caso de material fuertemente contaminado como las heces hay cierta controversia, y durante años no se utilizó porque se pensaba que favorecía el crecimiento de la microbiota acompañante a *Salmonella* spp. y aumentaba el número de falsos positivos (Aho, 1992). Sin embargo, hoy en día el pre-enriquecimiento en un medio líquido no selectivo se ha convertido en una práctica común para el aislamiento de la bacteria en muestras fecales de cerdo, aunque su eficacia no está suficientemente probada. (Hoorfar y Baggesen, 1998; Davies, P.R. *et al.*, 2000b).

- *Enriquecimiento selectivo*

El enriquecimiento en un medio selectivo es una fase crítica en el aislamiento bacteriano ya que se suprime la microbiota competitiva y se permite la proliferación de *Salmonella spp.* a niveles que puedan ser detectados posteriormente en un medio sólido. El medio selectivo que exige la ISO 6579:2002 (Anexo D) para el enriquecimiento es el Rappaport-Vassiliadis semisólido modificado (MSRV, en sus siglas en inglés). Este tipo de medio permite a las bacterias móviles esparcirse por la placa de medio, permitiendo distinguir a *Salmonella* de otras bacterias no móviles. Sin embargo, se usan frecuentemente otros medios para el enriquecimiento de la bacteria, como el caldo Tetracionato y el caldo Selenito (Waltma, 2000). Hay que tener en cuenta, a la hora de elegir el medio de cultivo, que estos dos últimos caldos pueden inhibir el crecimiento de algunos serotipos auxotróficos de *Salmonella*.

- *Medios selectivos sólidos*

Se han desarrollado varios medios de agar selectivo para el aislamiento de *Salmonella spp.* basados en el principio de selectividad y diferenciación. La “selectividad” supone la incorporación de una sustancia inhibidora al medio que impida específicamente el crecimiento de otras enterobacterias. La “diferenciación” de un medio de agar implica la adición de sustancias que permitan distinguir visualmente las colonias de *Salmonella* de otras bacterias (Mallinson *et al.*, 2000). Los caracteres más utilizados para la identificación de *Salmonella* son la producción de ácido sulfhídrico y la incapacidad de la bacteria para fermentar la lactosa.

1.1.4.2. Técnicas inmunoenzimáticas aplicadas al diagnóstico bacteriológico

La inmunología puede servir para el análisis de grandes cantidades de muestras de sangre o de otro tipo en la monitorización de la eficacia de programas de control en regiones endémicas o en el establecimiento del estatus inmunológico de la población y la prevalencia de infección, por ejemplo (EFSA, 2006).

La utilización de ELISA de captura para detectar el microorganismo en los alimentos y piensos está ganando un amplio uso en las industrias. Mientras que los métodos de cultivo tradicionales pueden tardar entre 3 y 7 días para identificar el microorganismo, con el método de ELISA se puede detectar la bacteria en un periodo de tiempo más corto, generalmente 1 día. Sin embargo, la fiabilidad de algunas de estas pruebas es cuestionable, en muestras altamente contaminadas

como las heces, la eficacia de la prueba se ve comprometida (Fedorka-Cray *et al.*, 2000). Varios autores coinciden en que la principal desventaja que tiene este método es que requiere un mínimo de 10^4 – 10^5 UFC/ml para detectar el microorganismo (Lambiri *et al.*, 1990; Van Poucke *et al.*, 1990). Por lo tanto, debe realizarse una fase previa de pre-enriquecimiento a la realización de ELISA para aumentar la sensibilidad.

El test ELISA también se utiliza para la monitorización de *Salmonella* en cerdos con la detección de anticuerpos en suero o jugo de carne. Generalmente, los ELISA para *Salmonella* están basados en el uso de lipopolisacáridos (LPS) de la bacteria como antígeno. Puede utilizarse el LPS de un solo serogrupo o mezclar el de varios (mix-ELISA) (Van der Wolf *et al.*, 1999).

Los test de ELISA detectan anticuerpos contra *Salmonella* y son, por tanto, test indirectos que miden la exposición previa a la bacteria. De esta manera, son capaces de detectar infecciones ocurridas recientemente, ya que los anticuerpos contra *Salmonella* pueden estar presentes hasta un periodo aproximado de unos tres meses después de iniciarse la infección (Gray *et al.*, 1996). Es decir, un animal que resulta positivo al test ELISA sugiere que debe haber sido infectado recientemente, en comparación con un cerdo bacteriológicamente positivo. Asimismo, animales recientemente infectados pueden ser ELISA negativos antes de que el número de anticuerpos haya alcanzado los niveles detectables.

El principio de esta técnica se basa en tapizar la placa de ELISA con el LPS de *Salmonella*. A continuación, se coloca la muestra de suero y, si los anticuerpos están presentes en la muestra se unirán al antígeno. Tras el período de incubación y lavado posterior, se agrega un segundo anticuerpo (anti-IgG de cerdo), conjugado con peroxidasa. La reacción antígeno-anticuerpo se revela por la adición de un sustrato. La intensidad del color desarrollado en los pocillos es proporcional a la concentración de anticuerpos en la muestra.

Esta técnica tiene como ventajas la facilidad de recogida de muestras en granja y matadero, es una técnica relativamente económica, y se pueden procesar muchas muestras a la vez y en poco tiempo. En cambio, los inconvenientes de esta técnica es que, además de los comentados anteriormente, no podemos conocer los serotipos de *Salmonella* presentes en la granja y si existe un serotipo diferente a los incluidos en el test, no lo detectaremos (Fernández *et al.*, 2006).

1.1.4.3. Caracterización fenotípica

El fenotipo es la expresión del genotipo y esto es lo que le convierte en un método útil para caracterizar las distintas especies de un mismo grupo de

microorganismos. Aunque el desarrollo de la biología molecular ha abierto nuevas y mejores posibilidades para la caracterización y el posterior estudio de la taxonomía y epidemiología bacteriana, los resultados obtenidos con técnicas de caracterización fenotípica como pueden ser el perfil bioquímico, el serotipo, el fagotipo, o el perfil de antibiorresistencia, les confieren un valor como herramientas complementarias útiles para el marcaje epidemiológico.

A) Perfil bioquímico

Una vez aislada la bacteria, el proceso de identificación de una cepa comienza con la identificación de la especie mediante pruebas bioquímicas (ISO 6579:2002). Es decir, el perfil bioquímico confirma la identidad de *Salmonella* frente a otras enterobacterias que hayan podido ser aisladas, conjuntamente, en los medios selectivos. La determinación del perfil bioquímico se establece como técnica de identificación, ya que se trata de una característica distintiva y “estable”, capaz de diferenciar a la mayoría de géneros del grupo de las enterobacterias (Farmer *et al.*, 1985).

El test bioquímico que se utiliza con mayor frecuencia para confirmar las cepas de *Salmonella* sospechosas es el API-20 (bioMérieux Inc., Durham, NC). La base del test está constituida por 20 microtubos que contienen sustratos deshidratados. Para la realización del test, se inocula la suspensión bacteriana en dichos microtubos y se reconstituyen los medios. Durante la incubación, el metabolismo de las bacterias produce cambios de color que aparecen de forma espontánea o tras la adición de un reactivo. Finalmente, la identificación se obtiene consultando el Índice Analítico de Perfil (API, en sus siglas en inglés).

B) Serotipado

El serotipado, aunque es una técnica serológica, forma parte de la bacteriología para la identificación de *Salmonella* spp. La serotipificación es una técnica estable, sencilla y que, por su amplia utilización, permite el seguimiento de los principales serotipos. Mediante el serotipado, pueden adscribirse distintos patrones de distribución, virulencia y resistencia a serotipos concretos de *Salmonella*, lo que constituye un elemento importante en la investigación epidemiológica.

Salmonella tiene una estructura antigénica muy compleja. Entre sus antígenos se encuentran (Guerrant, 1989; Volk, 1988; Rubio, 2006):

- antígenos somáticos (O), formados por el lipopolisacárido de la pared celular.

- antígenos H, formados por las proteínas de los flagelos.
- antígenos Vi, formados por las proteínas de la cápsula que tienen algunas cepas.

El serotipado permite identificar y caracterizar a los aislados del género *Salmonella* mediante la detección de su composición antigénica: antígenos somáticos (O), antígenos flagelares (H), que mayoritariamente constan de dos fases (H₁ y H₂), siendo ésta una característica exclusiva del género, y para ciertos serotipos, el antígeno capsular (Vi). Esta técnica consiste en un conjunto de reacciones de aglutinación rápida en placa, mediante la adición de sueros específicos de antígeno (O y H) (Popoff y Le Minor, 1992; Popoff *et al.*, 1992) según el esquema propuesto por Kauffman y White (Popoff *et al.*, 1997). Así, a cada cepa de *Salmonella* se le asigna una “fórmula” antigénica determinada, en la que se indica qué antígenos O y qué antígenos flagelares de fase 1 y de fase 2 tiene.

La fórmula antigénica se representa mediante una combinación de números y letras. En primer lugar, aparecen los antígenos somáticos separados por comas. En ocasiones alguno de estos números figura entre corchetes, queriendo significar que no siempre está presente. A continuación, para aquellos serotipos que lo presentan, aparece el antígeno capsular, separado de los anteriores también por comas. Y, finalmente, separado de los anteriores mediante dos puntos, los antígenos flagelares, cuyas fases se separan igualmente por dos puntos. La primera fase (H₁) se representa con letras minúsculas, aunque los nuevos antígenos descubiertos tienen asignados valores del tipo: z6, z10, etc. La segunda fase (H₂) se representó inicialmente con números arábigos, aunque actualmente los nuevos antígenos se representan con letras (Popoff *et al.*, 2001).

Los antígenos flagelares pueden presentarse de forma monofásica en algunas cepas, de manera que no expresan la segunda fase flagelar y se representa con el signo “-”. Existen cepas monofásicas que pueden presentar ocasionalmente la segunda fase flagelar, opcionalmente en la fórmula figura el signo “-” o bien, el antígeno entre corchetes. En el caso de que no sea posible detectar en el laboratorio la fórmula antigénica completa de una bacteria, se especifican todos los antígenos identificados y se indica, entre paréntesis, la subespecie a la cual pertenece. Este es el caso de *Salmonella* 4, 5, 12:i:- (Sub. I), una variante monofásica del serotipo Typhimurium que ha perdido la capacidad de producir antígenos flagelares de fase 2 (de la Torre *et al.*, 2003).

La fórmula antigénica se escribe de la siguiente manera:

ANTÍGENOS O,VI: FASE 1 DEL ANTÍGENO H: FASE 2 DEL ANTÍGENO H
--

Las cepas que poseen dichos antígenos iguales forman un serotipo o serovar, que recibe una denominación de uso común, pero que está relacionada con su fórmula antigénica. Por ejemplo, si hablamos de *Salmonella* Typhimurium estamos hablando en realidad de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Typhimurium y su fórmula antigénica es 1,4,[5],12:i:1,2. *Salmonella* Typhimurium tiene por tanto los antígenos O 1, 4, 5 y 12 (Rubio, 2006). Además, todos los serotipos que comparten antígenos O forman un serogrupo. Hasta el momento, los diferentes serogrupos de *Salmonella enterica* subesp. *enterica* se agrupan en 46 serogrupos diferentes.

En general, todos los serotipos conocidos se encuentran listados según el esquema de Kauffman-White-Le-Minor, aunque habitualmente sólo se aíslan unos cuantos. En definitiva, el serotipado se utiliza actualmente como marcador epidemiológico ya que permite realizar el seguimiento de los principales serotipos. Aunque el serotipado no es una técnica rutinaria en los laboratorios de diagnóstico, es una referencia obligada en los estudios de salmonelosis.

C) Fagotipado

A menudo, la determinación del serotipo de una cepa aislada puede ser insuficiente y se requieren investigaciones epidemiológicas más detalladas basadas en el fagotipado, es decir las cepas pertenecientes a un mismo serotipo de *Salmonella*, pueden diferenciarse en función de sus patrones de sensibilidad, frente a un grupo seleccionado de bacteriófagos (Tenover *et al.*, 1995). Se han desarrollado diferentes esquemas de fagotipado, principalmente por aquellos serotipos de especial importancia clínica o epidemiológica, como por ejemplo, los serotipos Typhimurium (DT104, DT104b, DT U302), Enteritidis (1, 4, 6A) y Virchow (8, 19, 31) (Anderson *et al.*, 1977; Ward *et al.*, 1987). El fagotipo o lisotipo tiene un gran valor en el estudio epidemiológico de *Salmonella*, ya que existe un alto porcentaje de correlación entre fagotipo y origen epidémico, así como su relación con la multirresistencia a los antibióticos o su capacidad invasiva.

De acuerdo con el protocolo estandarizado, los cultivos en Agar sangre durante 18 horas son inoculados en 3 ml de un caldo de fagos (caldo de doble concentración de nutrientes con 0,85% NaCl). Después de 1,5 horas de incubación con agitación vigorosa, el caldo es vertido en placas de agar para fagos. Después de eliminar el exceso de caldo de las placas, se inoculan 10 fagos de tipado en cada una de las placas con ayuda de una micropipeta. Las placas son incubadas durante toda la noche a 37°C, y el patrón de lisado de los fagos de cada cultivo es comparado con una lista de patrones publicada (Kim *et al.*, 2008).

D) Antibiorresistencia

A comienzos de los años 90, empezaron a describirse cepas de *Salmonella* resistentes a antibióticos, incluidos los antibióticos de primera elección para el tratamiento en humana, y están llegando a constituir un serio problema en Salud Pública. La múltiple resistencia a “antibióticos críticamente importantes” es la base de dicho problema (WHO, 2005).

El grupo de las fluoroquinolonas es el utilizado con mayor frecuencia en el tratamiento de la salmonelosis humana. Resultan relativamente económicos, son bien tolerados, tienen buena absorción vía oral y son más rápidos y más efectivos que otros antibióticos. Las cefalosporinas de tercera generación, cuya administración tiene lugar vía parenteral, son usadas mayoritariamente en niños con infecciones serias, puesto que las quinolonas no son recomendadas para este grupo de edad. Como alternativa, se usa de forma ocasional el cloranfenicol, la ampicilina y la amoxicilina y el trimetoprim-sulfametoxazol (WHO, 2005).

La aparición de antibiorresistencias en *Salmonella*, y otras bacterias zoonóticas, está ligada al abuso de antibióticos como tratamiento terapéutico y promotor de crecimiento en el ganado (Witte, 1998; Schroeder *et al.*, 2002). Cuando se autorizó por primera vez el uso de fluoroquinolonas en humana, no se observó una resistencia de *Salmonella* inmediatamente. Sin embargo, cuando se autorizó posteriormente su uso en la comida para animales, los niveles de resistencia de *Salmonella* a las fluoroquinolonas en animales y alimentos, y consecuentemente en las infecciones humanas, se incrementaron rápidamente en varios países (WHO, 2005).

En la adquisición de resistencias frente a antimicrobianos están implicados numerosos mecanismos relacionados con elementos genéticos móviles (de transmisión horizontal): plásmidos, transposones e integrones, jugando éstos un papel importante en su diseminación (Davies, J., 1994).

Conocer los niveles de resistencia a antimicrobianos de *Salmonella* es de interés tanto sanitario como epidemiológico. Establecer un perfil de antibiorresistencia es una práctica común, sencilla, rápida y accesible para la caracterización de cepas de *Salmonella* en estudios epidemiológicos. Un patrón de resistencias similar puede indicar cierta clonalidad, siempre y cuando las cepas en estudio sean geográficamente cercanas. Aunque las resistencias hayan sido transferidas de forma horizontal, se ha demostrado en *Salmonella* Typhimurium DT104 la integración de ciertas antibiorresistencias a nivel cromosómico (Threlfall *et al.*, 1994; Briggs *et al.*, 1999).

La aparición de cepas de *Salmonella* multirresistentes con resistencia a las fluoroquinolonas y a las cefalosporinas de tercera generación constituye un serio

problema, que resulta en una limitación severa en las posibilidades existentes para un tratamiento efectivo de las infecciones en humana (WHO, 2005).

1.1.4.4. Caracterización genotípica

La ingeniería genética y la biología molecular nos permiten conocer y estudiar el genoma de las bacterias para su ordenación y clasificación, de acuerdo a un criterio mucho más amplio que el obtenido a través de los métodos de caracterización fenotípica.

A) Técnicas moleculares

Los métodos de aislamiento bacteriológico convencionales son costosos y requieren tiempo. Por esto, se ha investigado mucho para desarrollar métodos rápidos para la detección de *Salmonella spp.* En general, el principio de estos métodos alternativos es permitir un análisis rápido de las muestras (EFSA, 2006).

En los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas moleculares de tipificación, basadas en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, en sus siglas en inglés). Estas técnicas han supuesto un importante avance en el estudio de las enfermedades infecciosas. Son sencillas de realizar, rápidas y poseen un elevado poder de discriminación (Fernández-Cuenca, 2004).

La PCR es una técnica que permite producir en el laboratorio múltiples copias de un fragmento de ADN específico. Como su propio nombre indica, se basa en la actividad de la enzima ADN-polimerasa, que es capaz de fabricar una cadena complementaria a otra ya existente mediante replicación enzimática *in vitro* (Feder *et al.*, 2001).

Para monitorizar lotes de cerdos puede ser útil un sistema de PCR automático, permitiendo la investigación de miles de muestras de heces para *Salmonella spp.* o cepas específicas en un periodo tan corto como un día, o menos en el futuro (Malorny y Hoorfar, 2005).

La PCR puede ser ampliamente modificada para conseguir un amplio abanico de manipulaciones genéticas. Las técnicas moleculares basadas en la PCR son muy diversas (Fernández-Cuenca, 2004):

- **AP-PCR:** Es una PCR que utiliza cebadores arbitrarios. Se caracteriza por ser poco reproducible, por lo que tiene que ser validada o estandarizada en cada laboratorio.

- **PCR-RFLP:** Se caracteriza por la digestión con enzimas de restricción de genes amplificados mediante PCR. Esta técnica es muy sencilla y reproducible.
- **AFLP:** Sus siglas atienden a Estudio del Polimorfismo de la Longitud de Fragmentos Amplificados. Esta técnica se basa en la amplificación, mediante PCR, de fragmentos de ADN obtenidos por restricción enzimática del ADN cromosómico. Posee mayor poder de discriminación y reproducibilidad que las anteriores, pero es más laboriosa y costosa, y necesita personal especializado.
- **PFGE:** Sus siglas atienden a Electroforesis de Campo Pulsado. Es la técnica de referencia para la mayoría de bacterias y hongos. Se caracteriza por ser más reproducible y discriminante, aunque también más laboriosa y difícil de interpretar que las anteriores.

B) Métodos genéticos

En un futuro cercano, los métodos de diagnóstico basados en la selección genética del ADN serán una realidad. Éstos están dirigidos hacia cuestiones de familia, género, especie, subespecie, identificación de cepas y caracterización genotípica, así como hacia la presencia de marcadores genéticos importantes como el de la resistencia a los antibióticos y el de la virulencia (EFSA, 2006).

En las horas siguientes a los brotes de *Salmonella spp.*, es necesario determinar rápidamente la fuente del brote y si se puede contener. Los métodos actuales para detectar la bacteria requieren entre uno y siete días. Actualmente ya se están desarrollando distintas técnicas, basadas en métodos genéticos, cuya actuación puede ser más rápida.

Una de estas técnicas utiliza un marcador genético. Este método, llamado *Hibridación Fluorescente In Situ* (FISH), fue desarrollado en 2008 por Byron Brehm-Stecher, profesor asistente en Ciencia de los Alimentos y Nutrición Humana en la Universidad del Estado de Iowa (EE.UU.) y podría ser una técnica importante para los epidemiólogos de *Salmonella* (Lantz *et al.*, 2008; Bisha y Brehm-Stecher, 2009).

1.2. IMPORTANCIA DEL SECTOR PORCINO

1.2.1. El sector porcino a nivel mundial

La producción mundial de carne de cerdo está actualmente liderada por Asia, con un 56,1%. Europa fue hasta 1980 líder en la producción de cerdo a nivel mundial,

pero el rápido crecimiento de la potencia asiática, tanto a nivel económico como social, ha dejado a Europa en un segundo plano (EFSA, 2006; *Food and Agricultural Organization* (FAO), 2014; Figuras 1.1 y 1.2).

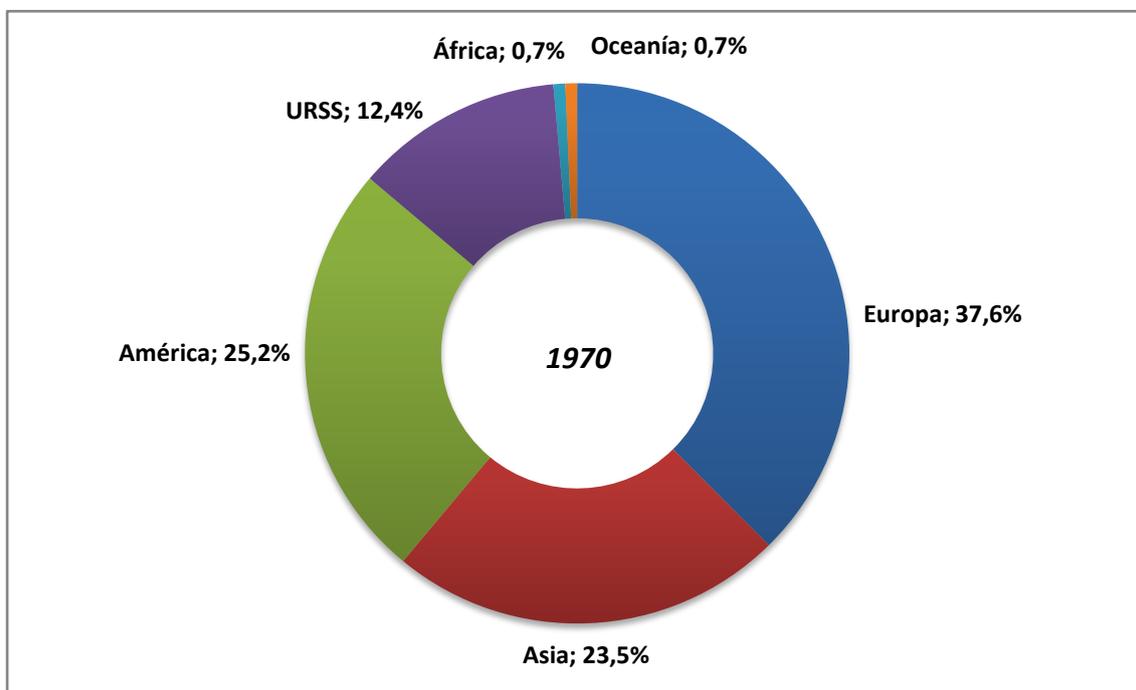


Figura 1.1: Producción de cerdo a nivel mundial en 1970 (EFSA, 2006).

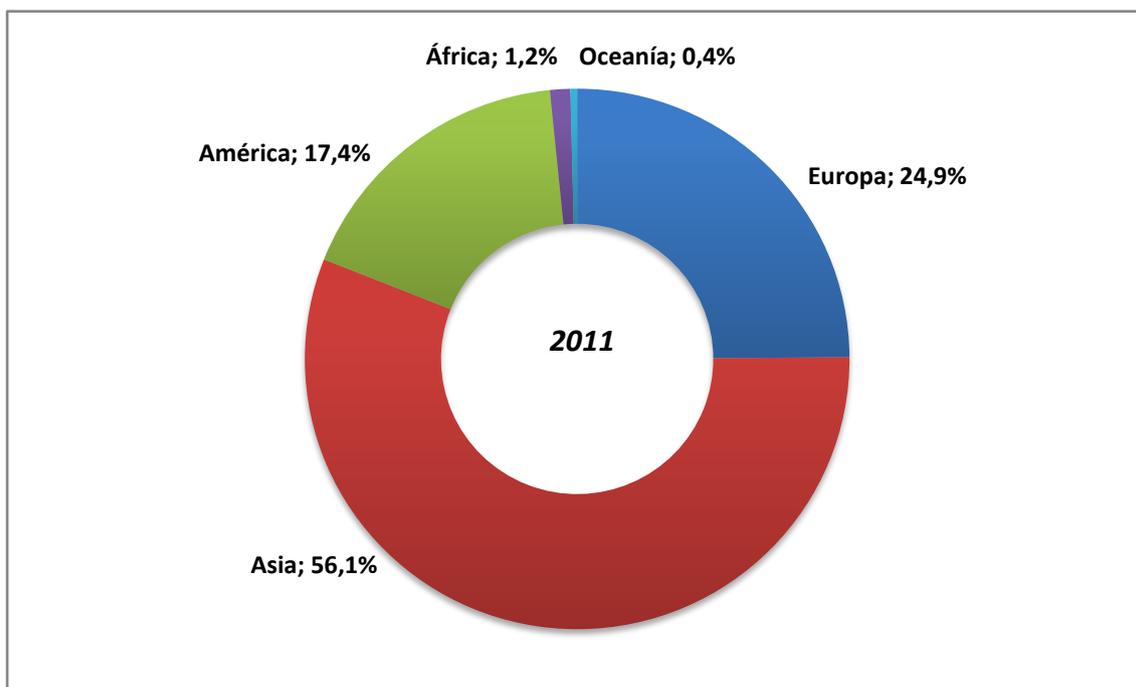


Figura 1.2: Producción de cerdo a nivel mundial en 2011 (FAO, 2014).

En la siguiente tabla (Tabla 1.1) se muestra la evolución de la producción global de carne de cerdo desde 1970 hasta 2010 (FAO, 2014). Los datos vienen expresados en 1000 toneladas. Al observar la tabla, podemos extraer las siguientes conclusiones:

1. La producción mundial se ha triplicado en las últimas décadas.
2. El incremento de la producción en Asia ha sido determinante. Ésta ha multiplicado por 7 su producción desde 1970.
3. Europa ha perdido la hegemonía mundial en la producción de carne de cerdo.

Tabla 1.1: Desarrollo de la producción global de carne de cerdo entre 1970 y 2011.

	1970	1980	2011
Europa	13.516	19.299	27.505
Asia	8.452	15.810	61.814
América	9.052	11.750	19.184
URSS	4.453	5.184	-
África	261	346	1.283
Oceanía	239	239	484
Total	35.973	52.628	110.270

Fuente: FAO, 2014.

Dejando a un lado los continentes y centrándonos en los países, los datos muestran que China es el país con mayor producción de cerdo a nivel mundial, seguida por EE.UU., Alemania y España.

Según datos de la FAO (2014), la producción de carne de cerdo en China superó los 51 millones de toneladas en 2010. Esto equivale a un 46,7% del total, es decir, casi la mitad de la producción mundial. En el mismo año, los 10 países líderes en producción de cerdo contribuyeron con el 77,9% de la producción. España, situada en 4º lugar, comprende el 3,2% del volumen total (Figura 1.3).

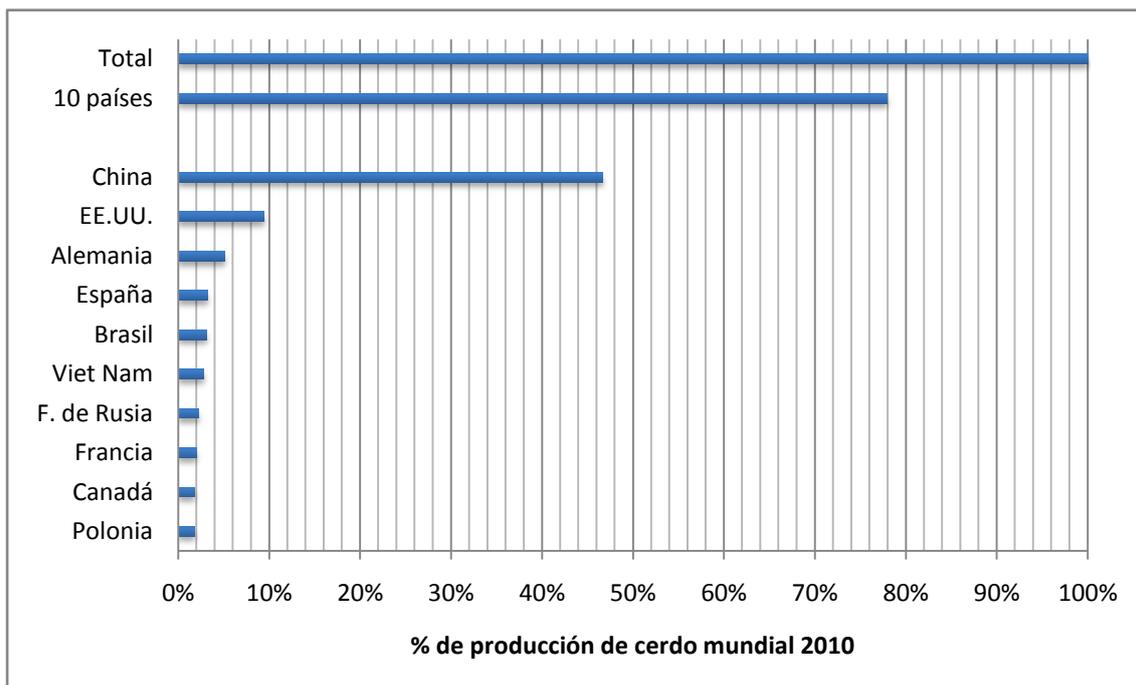


Figura 1.3: Porcentaje de producción de cerdo de los 10 países líderes en comparación con la producción mundial, así como el porcentaje de producción de cada uno de éstos en 2011 (FAO, 2014).

A continuación, se observa claramente el porcentaje de producción del resto de países del mundo con respecto a los 10 países líderes (FAO, 2014; Figura 1.4).

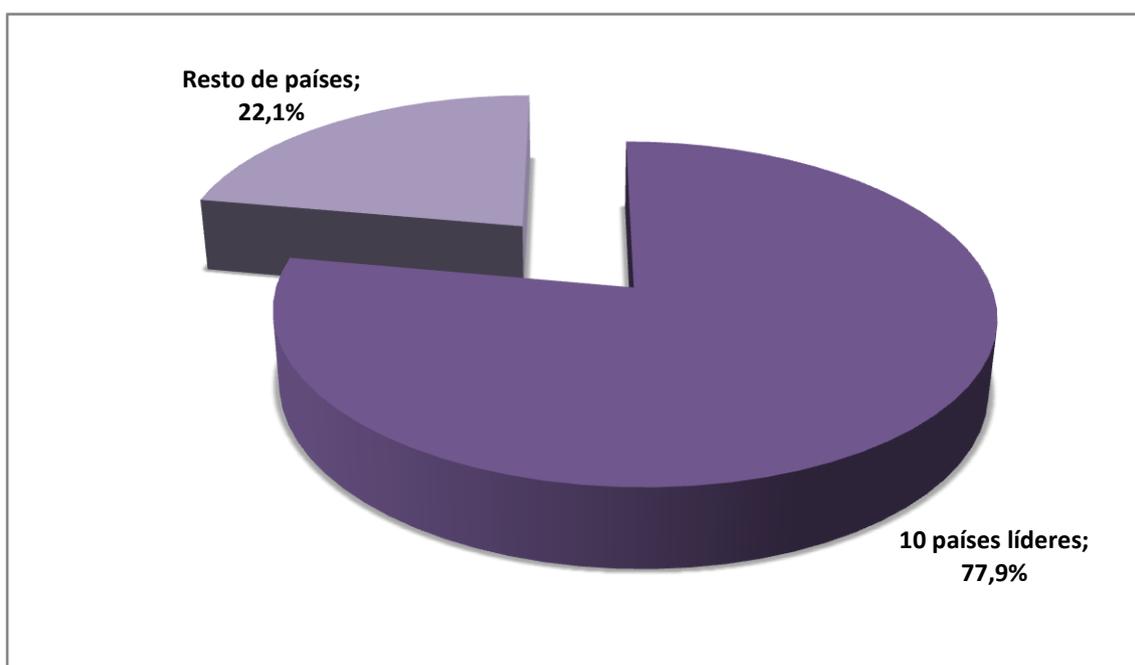


Figura 1.4: Representación gráfica del porcentaje de producción de los 10 países líderes en comparación con el resto del mundo en 2011 (FAO, 2014).

Aunque China es la mayor productora mundial de carne de cerdo, la Unión Europea (UE) es la mayor exportadora de cerdo en el mundo. Según datos del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA, 2013), la UE exportó más de 3 millones de toneladas en 2012 (Figura 1.5).

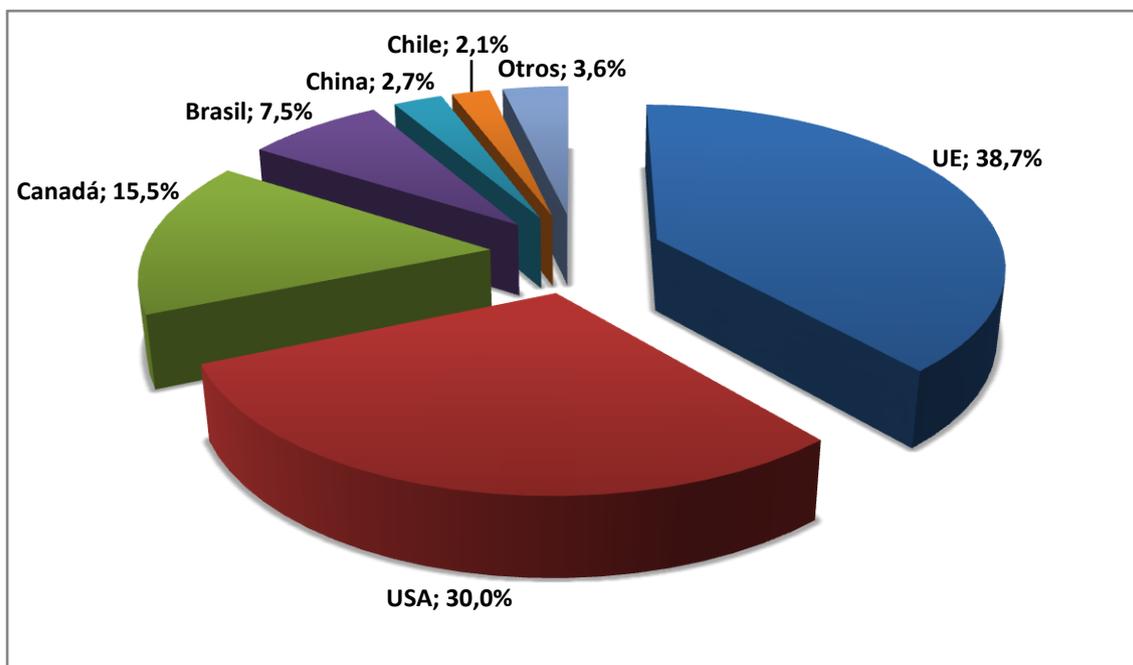


Figura 1.5: Principales países exportadores de carne de cerdo a nivel mundial en 2012 (MAGRAMA, 2013).

En cuanto a las importaciones a nivel mundial, Japón es el país que más carne de cerdo importa, seguido de Rusia. En 2012, Japón importó 1,3 millones de toneladas de carne de cerdo. Esto supone un 18,6% de las importaciones mundiales. Rusia, por su parte, importó 975.000 toneladas de carne porcina, alcanzando el 14,4% de las importaciones (MAGRAMA, 2013; Figura 1.6).

En términos de calidad, Japón merece una mención especial. Su demanda por la calidad y seguridad es muy alta, exigiendo programas de control de *Salmonella* entre otros, así que sólo unos pocos países de la UE tienen acceso al mercado japonés de carne de cerdo (EFSA, 2006).

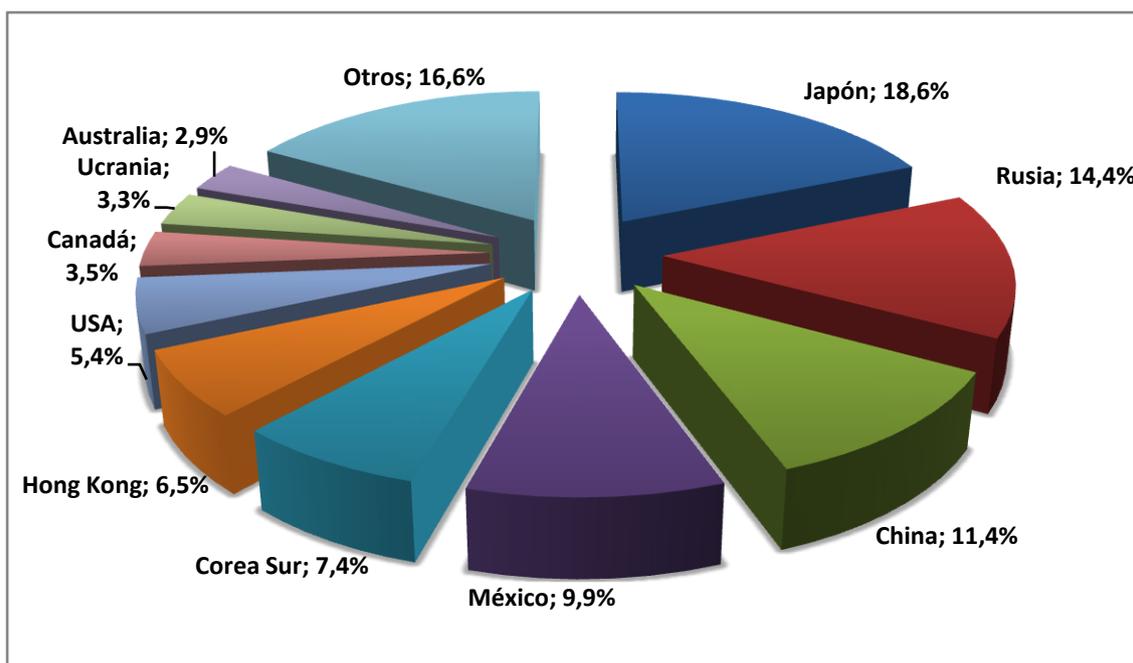


Figura 1.6: Principales países importadores de carne de cerdo a nivel mundial en 2012 (MAGRAMA, 2013).

Con respecto al consumo, China es el país que más carne de cerdo consume a nivel mundial. En 2012, China consumió 51,9 millones de toneladas de carne de cerdo. Este dato no debe sorprendernos si tenemos en cuenta su elevada población y su creciente desarrollo económico. La UE le sigue con 20,5 millones de toneladas consumidas en 2012 (MAGRAMA, 2013; Figura 1.7).

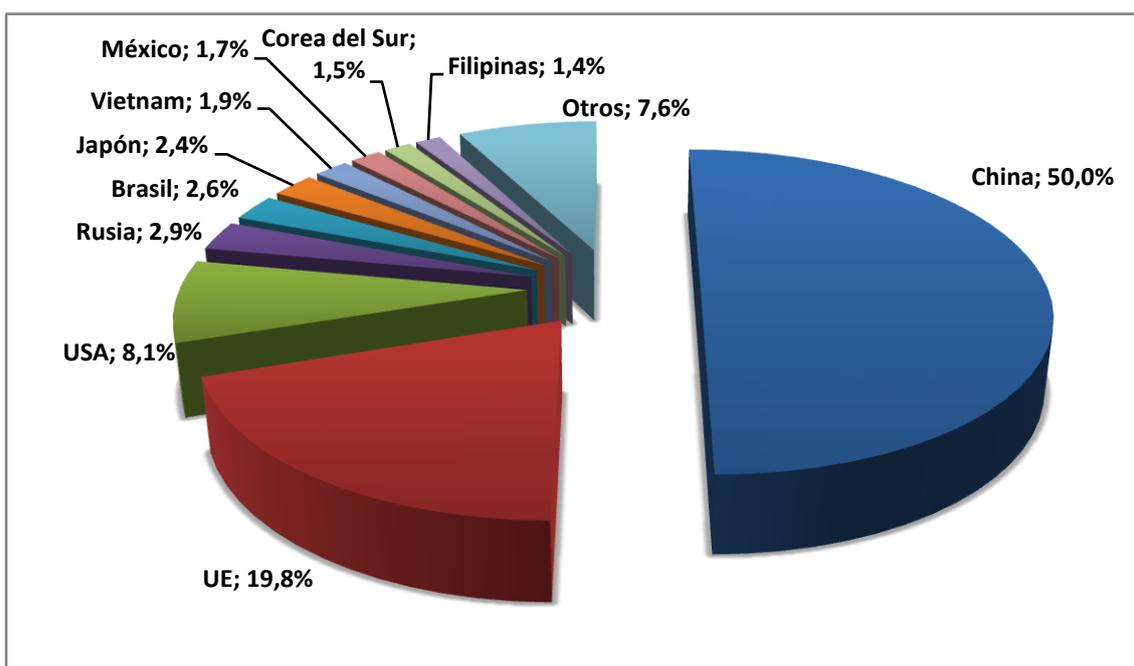


Figura 1.7: Principales países consumidores de carne de cerdo a nivel mundial en 2012 (MAGRAMA, 2013).

1.2.2. El sector porcino a nivel europeo

Tras la ampliación de la Unión Europea (UE) a 25 países en 2004, el censo de cerdos alcanzó los 158 millones. En el 2007, tras la incorporación de Rumanía y Bulgaria, la UE pasó a contar con aproximadamente 161 millones de cerdos en su censo. En el 2011, la UE contó con un censo menor, 151 millones de cerdos. Alemania, con un 17,8% es el país de la UE que más cabezas aporta, seguida inmediatamente por España, con un 17,0%. Francia (9,3%), Polonia (9,0%), Dinamarca (8,6%) y Países Bajos (8,3%) también merecen una mención especial. Los seis países europeos con mayor censo se han mantenido durante estos años, con porcentajes similares (FAO, 2014; Figura 1.8).

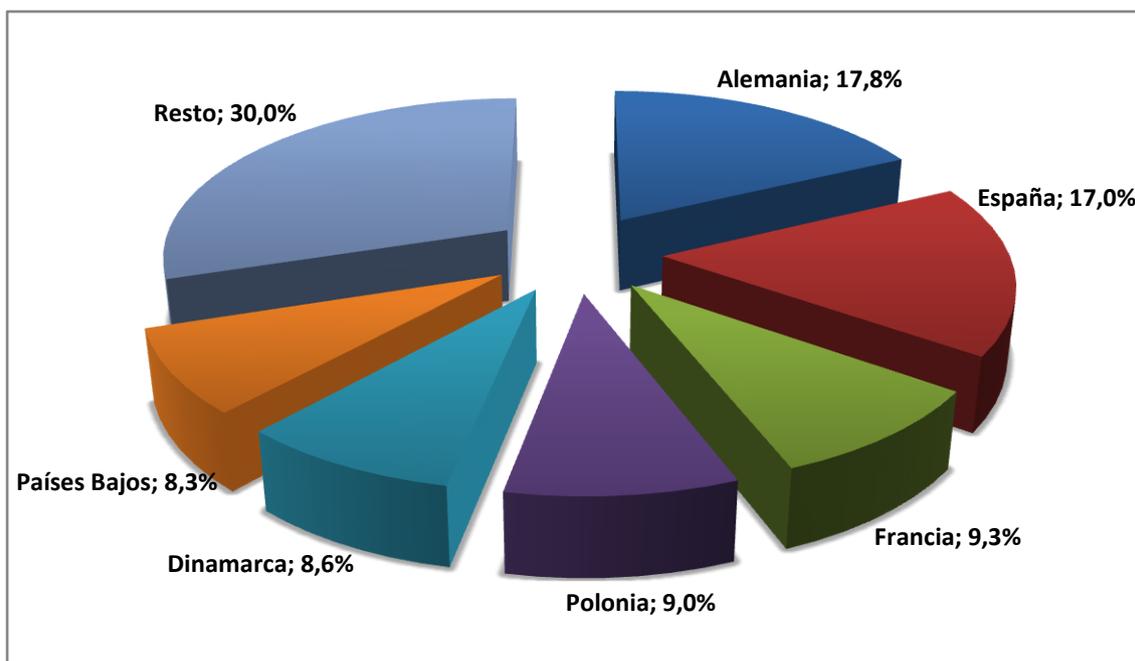


Figura 1.8: Representación gráfica del censo de cerdos de la UE en 2011 (FAO, 2014).

En la UE existe una alta concentración tanto en el censo como en la producción de carne de cerdo. Sólo los seis países con mayores cantidades representan el 70,0% y el 71,6%, respectivamente. La ampliación de la UE en 2004 ayudó en gran parte a alcanzar estos porcentajes. Los nuevos Estados Miembros (EM) contribuyeron con un 21% al censo de cerdos y con un 16,4% a su producción (FAO, 2014; Figura 1.9).

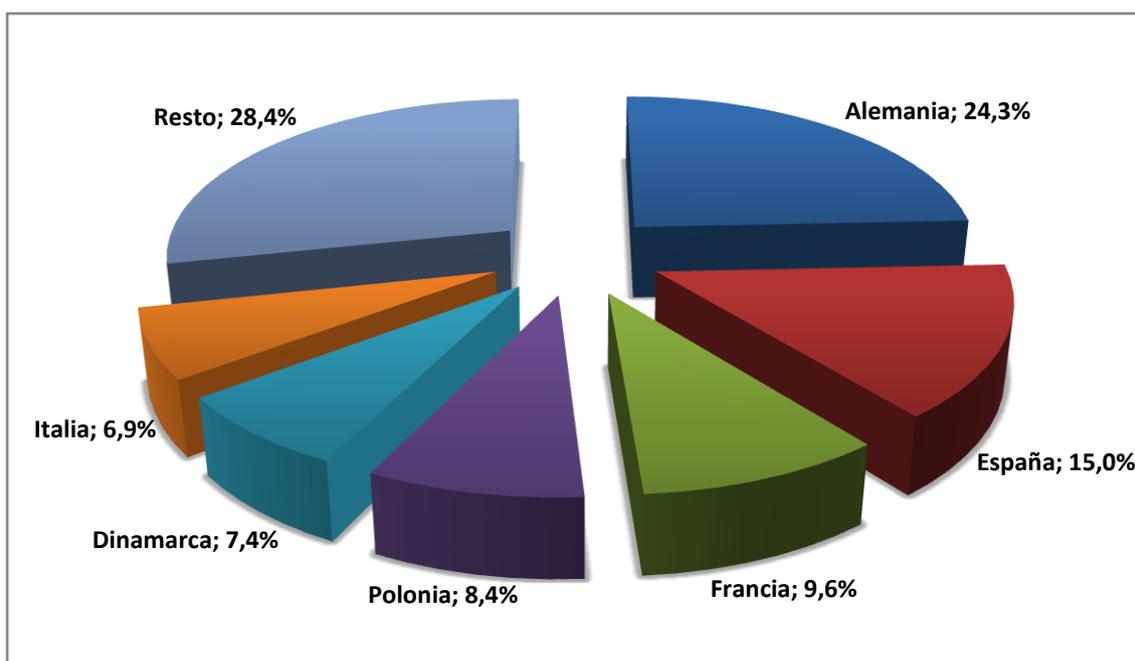


Figura 1.9: Representación gráfica de la producción de carne de cerdo en la UE en 2011 (FAO, 2014).

Con respecto a las exportaciones, la UE domina la exportación global de carne de cerdo. No obstante, en los últimos años la mayoría de las relaciones comerciales se han dado entre los EM. Tan sólo el 20% de las exportaciones han sido a países fuera de la Unión, según datos de la EFSA (2006). En 2012, la UE exportó 3,1 millones de toneladas a terceros países, de los cuales Rusia (23,9%) fue el mayor importador (MAGRAMA, 2013).

Dinamarca lideró la exportación de carne de cerdo a nivel europeo durante muchos años, siendo superada por Alemania en el año 2008. Ambos países juegan un papel muy importante en las exportaciones cárnicas, con una estructura bien desarrollada y un sistema de producción nacional muy bien organizado. En el año 2012, Alemania exportó 808.447 toneladas de carne de cerdo, le siguió Dinamarca con 577.953 toneladas de cerdo exportadas. España (350.362), Polonia (316.258), Holanda (234.355) y Francia (229.125) fueron los siguientes en esta categorización. Estos seis países representan el 80,6% de las exportaciones comunitarias (MAGRAMA, 2013; Figura 1.10).

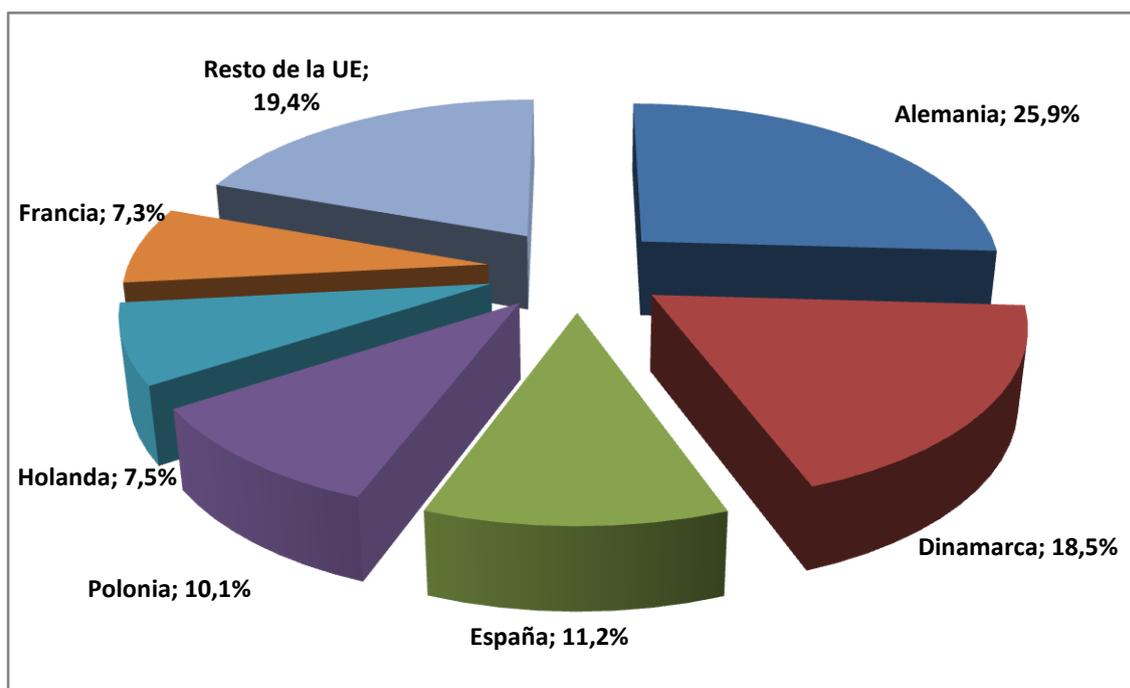


Figura 1.10: Representación gráfica de la exportación de carne de cerdo de la UE en 2012 (MAGRAMA, 2013).

Las exportaciones europeas fuera de sus EM están dirigidas principalmente a dos áreas geográficas (MAGRAMA, 2013; Figura 1.11):

- a) Países vecinos fuera de la UE, como Rusia.
- b) Sudeste asiático, como Hong Kong y China.

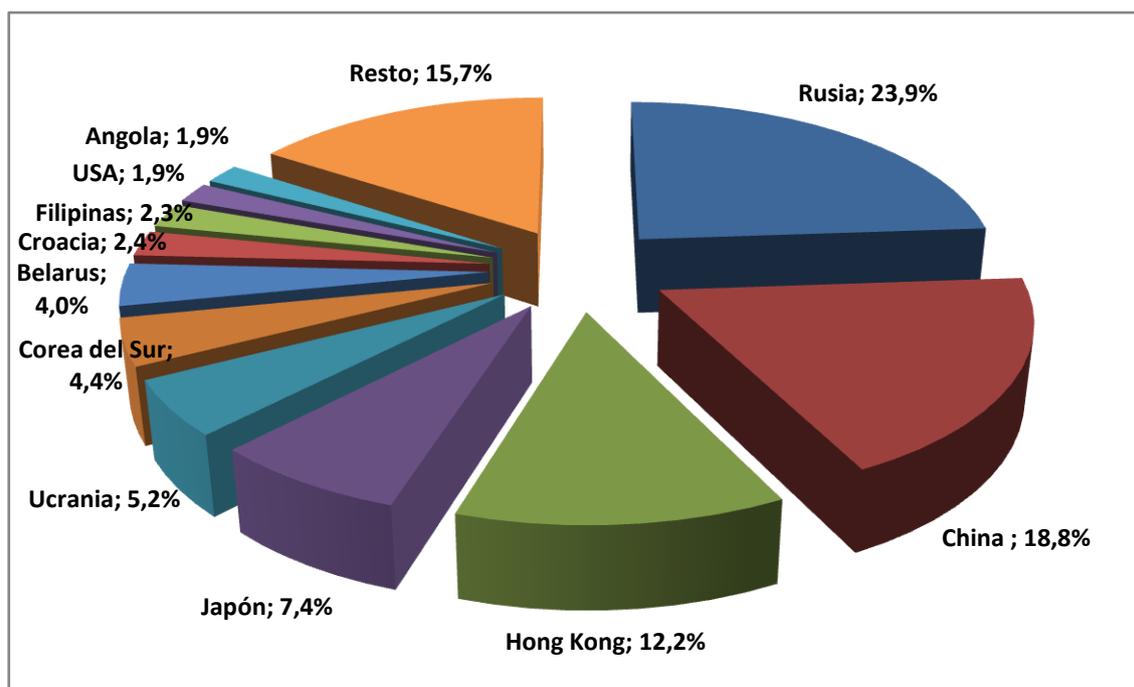


Figura 1.11: Principales destinos de las exportaciones porcinas de la UE en 2012 (MAGRAMA, 2013).

Con respecto al consumo, comparado con otras regiones del mundo, la UE tiene un índice alto *per cápita*. En 2012, tuvo de media un consumo aparente *per cápita* de carne de cerdo de 40,9 Kg/habitante/año, España alcanzó los 48,0 Kg/habitante/año (MAGRAMA, 2013).

1.2.3. El sector porcino a nivel nacional

El sector porcino es el primer sector de la ganadería de nuestro país con una producción anual que supone más de 4.000 millones de euros al año, lo que le coloca como el segundo productor de la Europa de los 27. Estas cifras configuran al sector porcino español como un líder europeo (MAGRAMA, 2014).

Desde siempre, el cerdo ha estado íntimamente ligado a la economía familiar del medio rural en toda nuestra geografía. Tal relevancia se refleja en la propia gastronomía de todas las regiones del país, donde el consumo de carnes frescas y de múltiples productos porcinos forma parte de nuestro patrimonio cultural. El jamón de Teruel, el jamón ibérico de bellota, la morcilla de Burgos, la sobrasada de Mallorca, etc. Infinidad de productos españoles tienen como ingrediente principal la carne de este preciado animal.

Debido a sus características zootécnicas (fisiológicas, patológicas, nutricionales, de manejo, etc.), la porcicultura ha alcanzado, junto con la avicultura, el mayor

grado de industrialización y de intensificación productiva de las distintas especies de abasto (MARM, 2007).

España contó con una cabaña de 25.250.377 cabezas de cerdos según las encuestas ganaderas realizadas en noviembre de 2012 (MAGRAMA, 2012).

En el periodo comprendido entre 1986 y 2012, se puede observar el aumento progresivo que ha tenido el censo de ganado porcino en España hasta su estabilización en los últimos años. Mientras que las cerdas reproductoras se han mantenido constantes en torno a los 2.500.000 animales, el cebo fue aumentado año tras año hasta 2009 y se ha mantenido estable en los últimos años en torno a los 10.142.001 animales del último año (MAGRAMA, 2013; Figura 1.12).

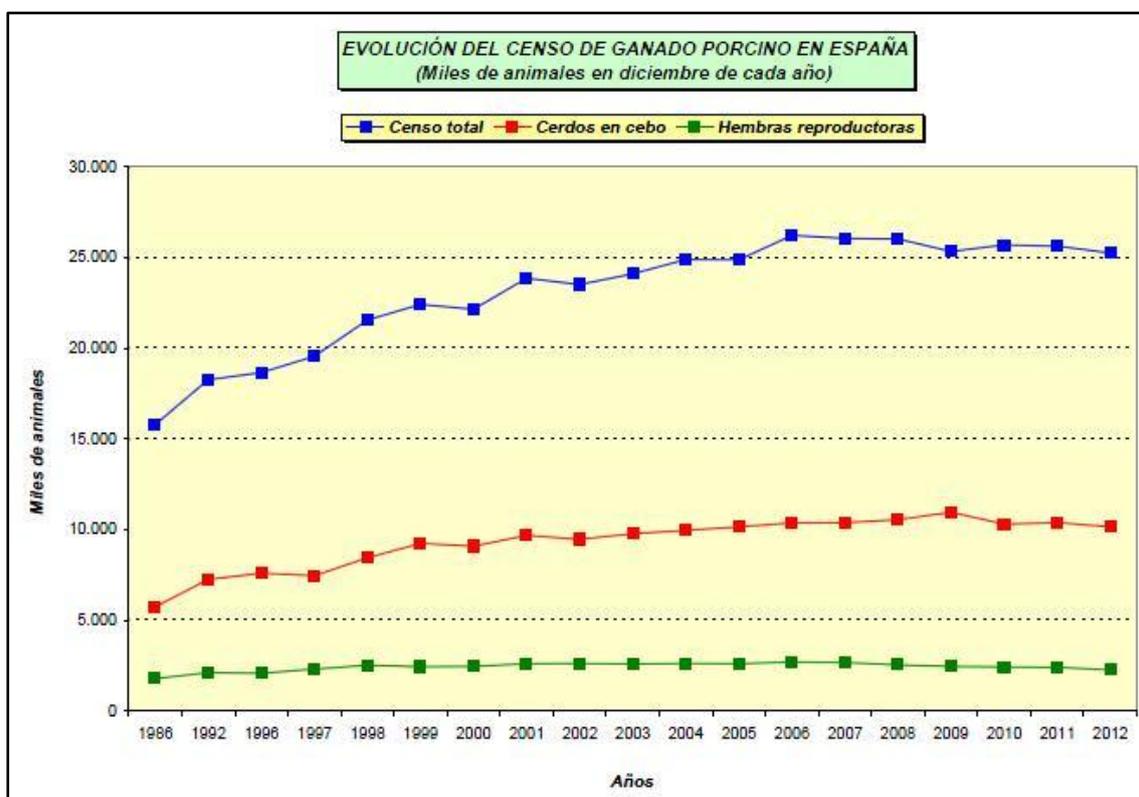


Figura 1.12: Evolución del ganado porcino en España 1986-2012 (MAGRAMA, 2013).

En el año 2009 el censo descendió progresivamente hasta llegar a una bajada del 4,3%. La mayor caída se produjo desde noviembre de 2009 hasta mayo de 2010, con un descenso del 2,5%. El descenso más acusado fue en el cebo, que bajó más del 14% en los últimos 5 meses. Una posible causa podría ser el aumento de precio de los cereales. Sin embargo, las cerdas reproductoras aumentaron en un 3%, sobre todo en los últimos 6 meses (MARM, 2010). En las encuestas ganaderas del año 2012, se ha observado que después de unos años de lento descenso ha habido una leve recuperación, reflejando esa estabilidad comentada anteriormente. En cambio, se ha

registrado el menor censo de cerdas reproductoras de los últimos años (MAGRAMA, 2013).

En España, algunas Comunidades Autónomas presentan una marcada especialización productiva y existe un intenso tráfico comercial entre ellas. Hay comunidades que se han erigido tradicionalmente como principales productoras de lechones, mientras que otras concentran el grueso de su producción en los cebaderos, acompañados generalmente por una potente industria transformadora. No obstante, esta tendencia parece haber cambiado en los últimos años, incrementándose el número de explotaciones de ciclo cerrado debido a su mayor rentabilidad económica (MARM, 2007).

El ganado porcino está presente en prácticamente todo el territorio español, aunque destacan tres Comunidades Autónomas en las que en cada una de ellas el censo supera el 10% del total nacional y en su conjunto suponen más del 60% de la cabaña porcina en España. A la cabeza se sitúa Cataluña, siguiéndole Aragón y, posteriormente, Castilla y León (MAGRAMA, 2012; Figura 1.13).

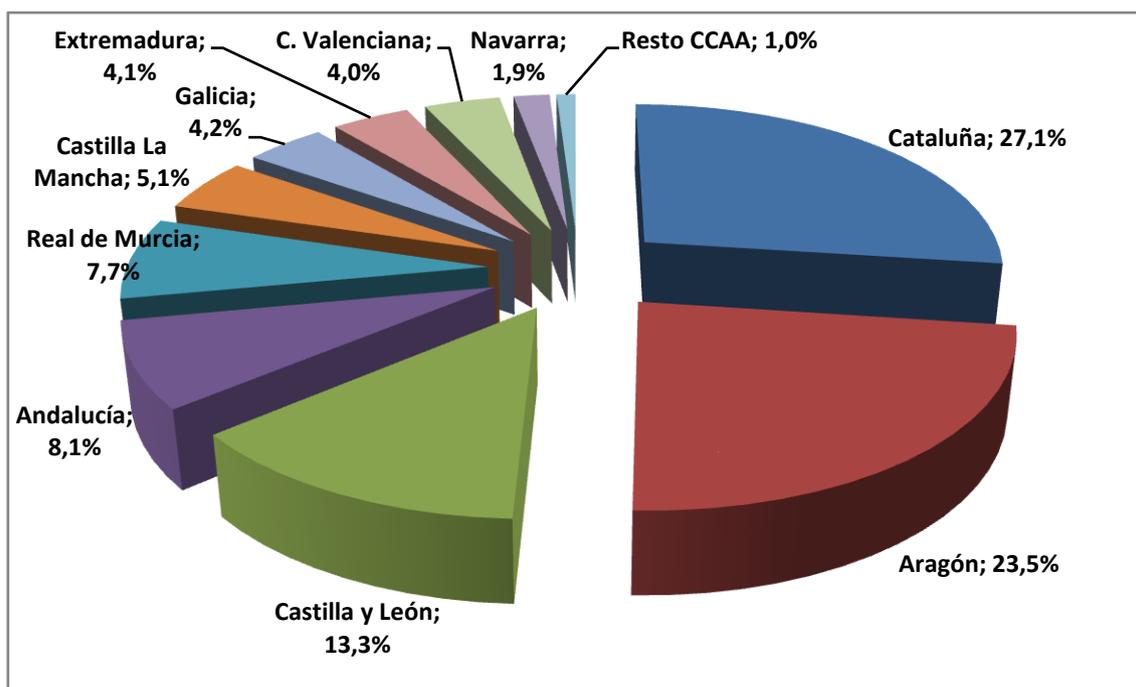


Figura 1.13: Distribución del ganado porcino en el territorio español en 2012 (MAGRAMA, 2012).

En la Comunidad Valenciana se registraron un total de 1.020.129 cabezas de cerdos en las encuestas ganaderas de noviembre de 2012, suponiendo el 4% del censo total a nivel nacional. En este registro, 452.770 eran cerdos de cebo y 71.985 eran cerdas reproductoras (MAGRAMA, 2012).

Según los últimos datos publicados procedentes de las encuestas ganaderas de mayo del 2013, España contó con 24.597.154 cabezas. Se debe tener en cuenta que en la encuesta de mayo y con motivo del descenso del cebo sobre todo, el censo siempre tiende a ser menor que 6 meses atrás. A finales de año, con motivo de la montanera en extensivo los censos suelen aumentar. En dichas encuestas, la provincia con mayor número de animales de ganado porcino fue Lleida con 3.634.791 cabezas, y le siguió en importancia Huesca, Zaragoza y Barcelona. Sólo estas cuatro provincias supusieron el 42,5% del total de ganado porcino en España. La Comunidad Valenciana contó con 942.580 cerdos en mayo de 2013: 62.610 cerdos en Alicante, 502.316 en Castellón y 377.654 en Valencia (MAGRAMA, 2014).

En cuanto a la producción de carne a nivel nacional, Cataluña es la Comunidad Autónoma que más toneladas de carne de cerdo produce, contando con 1.476.839 toneladas en 2012, el 42,0% de la producción española (3.515.400 toneladas). Le siguieron Castilla y León, Andalucía y Castilla La Mancha con el 13,8%, 9,3% y 8,7%, respectivamente. La comunidad Valenciana produjo 114.552 toneladas de carne de cerdo en 2012, suponiendo el 3,3% de la producción total a nivel nacional (MAGRAMA, 2013).

1.2.4. El sector porcino en el ámbito social y económico

Según estimaciones llevadas a cabo por la Comisión de la Unión Europea, el promedio *per cápita* de consumo de cerdo en la UE fue de 40,9 Kg/hab en 2012 (MAGRAMA, 2013).

Según una estimación llevada a cabo por el Sistema de Análisis de Precios del Mercado Central Alemán (ZMP, en sus siglas alemanas) España es el país con el mayor consumo de cerdo *per cápita* de la UE, con 70,0 Kg de media (EFSA, 2006). Le sigue Dinamarca (56,7 Kg), Austria (56,3 Kg) y Alemania (55,1 Kg). Los países que menos cerdo consumen son Lituania (21,9 Kg) y Reino Unido (22,1 Kg). Estos datos son contradictorios puesto que, según el MAGRAMA (2013), el consumo de cerdo en España en el año 2012 fue de 48,0 Kg/hab/año.

Además de las variaciones existentes entre los diferentes países en cuanto al consumo, hay incluso mayor variación en los índices de abastecimiento de cerdo (relación (%): cerdo producido *versus* cerdo consumido) de los EM.

La UE tiene un autoabastecimiento medio en torno al 100%. Sin embargo, hay países europeos con un índice muy alto de abastecimiento, como Dinamarca, con un índice del 600%. Esto significa que produce seis veces más cerdo del que consume. Por el contrario, el Reino Unido produce el 53% de la carne de cerdo que consume y Grecia

sólo el 44%. España tuvo un autoabastecimiento del 154,9% en el año 2012 (MAGRAMA, 2013).

Debido a estas diferencias, tanto en las cantidades producidas como en los hábitos de consumo, existe un importante comercio de cerdo y carne de cerdo entre los EM. Los países que más exportan dentro de la UE son Dinamarca, Holanda, Bélgica, Francia, Alemania y, cada vez más, España. Los países que más importan son Grecia, Reino Unido, Italia y los nuevos EM (EFSA, 2006).

En el año 2012, España obtuvo un beneficio de 3.299.554 miles de euros con las exportaciones de carne de cerdo y sus derivados, de los cuales 2.591.867 miles de euros se obtuvieron a nivel intracomunitario (MAGRAMA, 2013).

Si analizamos las exportaciones, entre el 70 y el 80% de la carne de cerdo es adquirida por minoristas y carniceros para su procesado. Entre el 20 y el 30% restante se vende a particulares y restaurantes (EFSA, 2006).

La variable demanda de los consumidores de la UE y los principales países importadores de carne de cerdo pueden tener un papel decisivo en los fines de organización y producción de la industria porcina, así como en la puesta en marcha de programas de monitorización y control de *Salmonella spp.* en todos los EM.

Estas medidas tendrían un efecto positivo en la aceptación de la carne de cerdo producida en la UE por los propios consumidores y en la competitividad de la UE en el mercado global.

1.3. EPIDEMIOLOGÍA DE *SALMONELLA* SPP.

1.3.1. Importancia de la presencia de *Salmonella* en el ser humano

Para la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2005), *Salmonella* es una de las mayores causas de enfermedad de origen alimentario en humanos. En todo el mundo, se producen anualmente millones de casos de salmonelosis, y la enfermedad se traduce en cientos de muertes. Esto constituye una gran preocupación para la salud pública y representa un coste significativo en muchos países.

1.3.1.1. Aspectos clínicos

La salmonelosis es una de las causas más importantes de gastroenteritis en las personas (Miller *et al.*, 1995).

Existe una variación muy importante en cuanto al poder patógeno de los diferentes serotipos, pero la mayor parte de ellos son patógenos tanto para los animales como para el hombre.

Salmonella Typhi y la mayoría de *Salmonella* Paratyphi (A, B y C) causan serias infecciones sistémicas en los humanos (fiebre tifoidea y paratifoidea, respectivamente). La mayoría de estos serovares son patógenos específicos del ser humano, y son transmitidos directa o indirectamente de humanos a humanos. La fiebre entérica o tifoidea es la más grave de las salmonelosis humanas. En la mayoría de los casos, la enfermedad es asintomática durante el periodo de incubación de 1 a 14 días, y posteriormente cursa con fiebre, malestar, anorexia, mialgias, cefalea, dolor abdominal y estreñimiento. La diarrea es más común en pacientes con el sistema inmune comprometido y en niños. Puede aparecer también tos improductiva y epistaxis. Otros síntomas menos frecuentes son la aparición de exantemas maculosos o maculopapulosos, bradicardia y, en casos más graves, síntomas neurológicos. Un diagnóstico tardío o una falta de respuesta al tratamiento puede conllevar complicaciones serias incluyendo la hemorragia gastrointestinal, la perforación de intestino y el shock (Kanungo *et al.*, 2008). Sin el tratamiento adecuado, la letalidad alcanza el 10%. Actualmente, los brotes de fiebre tifoidea ocurren frecuentemente en países en vías de desarrollo, en campos de refugiados y en áreas con una densidad de población elevada (Maskalyk, J., 2003).

Los demás serotipos pueden producir una gran variedad de infecciones no tifoideas en el hombre, como infecciones asintomáticas del intestino, enterocolitis, bacteriemia o infecciones localizadas, desde osteomielitis hasta endocarditis. El periodo de incubación es de 5 a 7 horas tras la ingestión del alimento contaminado, aunque los síntomas pueden no aparecer hasta las 12 o 36 horas. El cuadro dura entre 4 y 7 días y la mayoría de las personas mejora sin tratamiento. Puede ser más grave en personas con el sistema inmune comprometido como ancianos, niños y personas con enfermedades crónicas, aunque la muerte del paciente es poco común (Guerrant, 1989).

El principal reservorio de esta bacteria lo constituyen las vías intestinales de muchos animales, tanto domésticos como salvajes, que resulta en una amplia variedad de fuentes de infección (EFSA, 2013). Aún así, aunque en algunas ocasiones sea asociada con la exposición a animales domésticos, reptiles y agua contaminada, la salmonelosis es principalmente una enfermedad de origen alimentario (Mead *et al.*, 1999).

1.3.1.2. Prevalencias de *Salmonella* en el ser humano

A) La salmonelosis en el mundo

Salmonella es una de las mayores causas de gastroenteritis de origen bacteriano a nivel mundial (Barrow *et al.*, 2003).

Se dispone de cierta información sobre la frecuencia de *Salmonella* en algunos países, sin embargo, hay regiones de las cuales existe una carencia o una cantidad limitada de datos, como son África, Asia y América del Sur (*Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*, 2009).

No obstante, la salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por los alimentos que con más frecuencia se notifican en todo el mundo (WHO, 2005).

Los datos internacionales resumidos por Thorns (2000) indican una incidencia estimada de salmonelosis de entre 14 y 120 casos cada 100.000 personas en 1997: 14 en Estados Unidos (EE.UU.), 38 en Australia y 73 en Japón. En la Unión Europea, los cálculos varían entre 16 casos por 100.000 en los Países Bajos y 120 casos por 100.000 en algunas partes de Alemania (Tabla 1.2).

Tabla 1.2. Incidencia anual estimada de salmonelosis.

Países	Casos por 100.000 habitantes
Estados Unidos	14
Australia	38
Japón	73
Países Bajos	16
Alemania	120

Fuente: Thorns, 2000.

Cada año, aproximadamente 40.000 infecciones por *Salmonella* son confirmadas mediante cultivo, serotipadas y comunicadas a los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC, en sus siglas en inglés) de los EE.UU. Del número total de casos, se calcula que el 96% es de origen alimentario (WHO y FAO, 2002).

En el 2012, hubo un total de 19.531 casos de infección por patógenos transmitidos por los alimentos, confirmados mediante laboratorio, en EE.UU. *Salmonella* spp. fue el patógeno más frecuente con 7.800 infecciones registradas y con una incidencia de 16,42 por cada 100.000 habitantes (CDC, 2013).

Según Mead *et al.* (1999), los principales patógenos de origen alimentario que causan la muerte en EE.UU. son *Salmonella*, *Listeria* y *Toxoplasma*, los cuales reúnen

1.427 o más del 75% de las muertes por toxiinfecciones alimentarias causadas por patógenos conocidos. Estos datos coinciden con los publicados por la CDC (2011), donde se estima que el número de muertes causadas por *Salmonella* no tifoidea es 378 (28%), por *Toxoplasma gondii* 327 (24%) y por *Listeria monocytogenes* 255 (19%).

De acuerdo con la revisión realizada entre 1995 y 1998, en Sud-América, por Franco *et al.* (2003) sobre brotes alimentarios de origen bacteriano, *Salmonella* era la responsable de la mayoría de los casos registrados en la región (36,8%).

En Korea, el 55,1% de las enfermedades de origen alimentario registradas entre 1993 y 1996 fueron por salmonelosis (Bajk y Roh, 1998).

Salmonella ha experimentado un descenso pronunciado en el número total de brotes en Europa. Aún así, en 2011, permaneció como el agente causante de brotes de origen alimentario detectado con mayor frecuencia en la UE, siendo el responsable del 26,6% de los brotes en cuyo agente etiológico fue determinado (EFSA, 2013).

Se han identificado más de 2.500 variantes séricas de *Salmonella*, de las cuales las más prevalentes son *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium y *Salmonella* Heidelberg (WHO y FAO, 2002).

B) La salmonelosis en la Unión Europea

El número de casos de salmonelosis humana en 2011 siguió la tendencia de descenso existente desde 2008. A pesar de ello, la salmonelosis permanece como la segunda zoonosis aislada con mayor frecuencia en la UE.

En el año 2011, un total de 97.897 casos de salmonelosis no tifoidea fueron registrados por los 27 EM, de los cuales 95.548 fueron confirmados por el Sistema de Vigilancia Europeo (The European Surveillance System-TESSy). La tasa de notificación fue de 20,7 casos por 100.000 personas (EFSA, 2013; Figura 1.14).

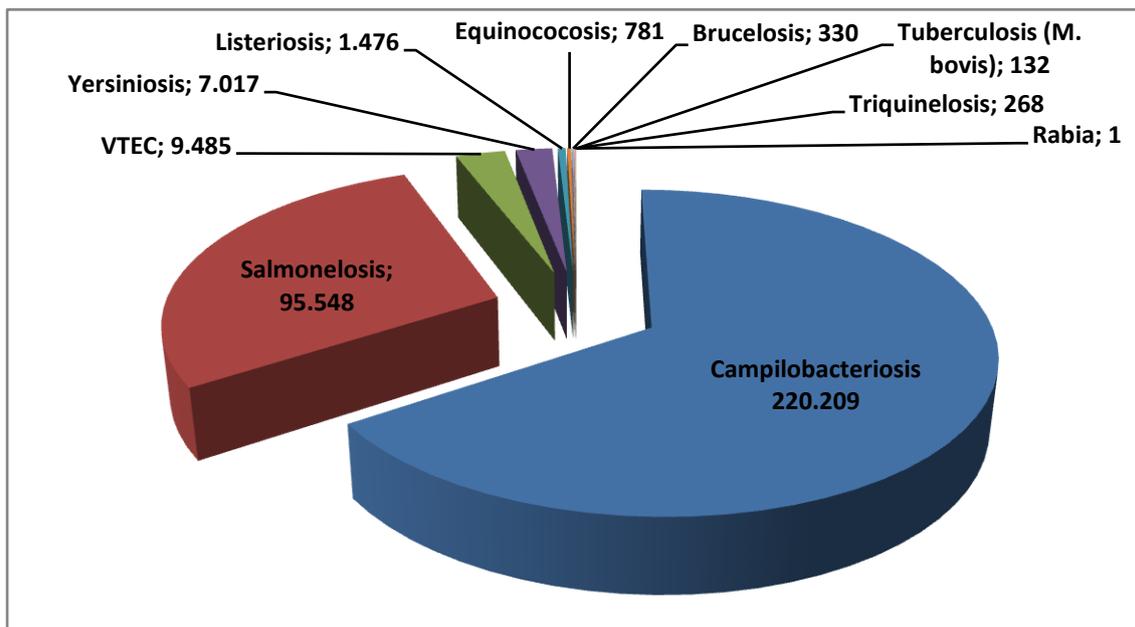


Figura 1.14. Número de casos confirmados de zoonosis en humanos en la UE, 2011 (EFSA, 2013).

Aunque la salmonelosis en humanos fue la segunda zoonosis registrada con mayor frecuencia en 2011, en los últimos años se ha observado un descenso significativo, representando un descenso de 58.000 casos (38%) comparado con el número de casos registrado en 2007. Esta reducción ha sido particularmente manifiesta para el serotipo aislado con mayor frecuencia, *S. Enteritidis*. Se asume que dicha reducción es debido principalmente a los programas de control de *Salmonella* llevados a cabo en las poblaciones de aves. A pesar de ello, el número de notificaciones de *Salmonella* spp. sigue siendo elevado en los países de la UE, esto subraya la necesidad de continuar con los esfuerzos de prevención y control de la salmonelosis en humanos a nivel Comunitario (EFSA 2013; Figura 1.15).

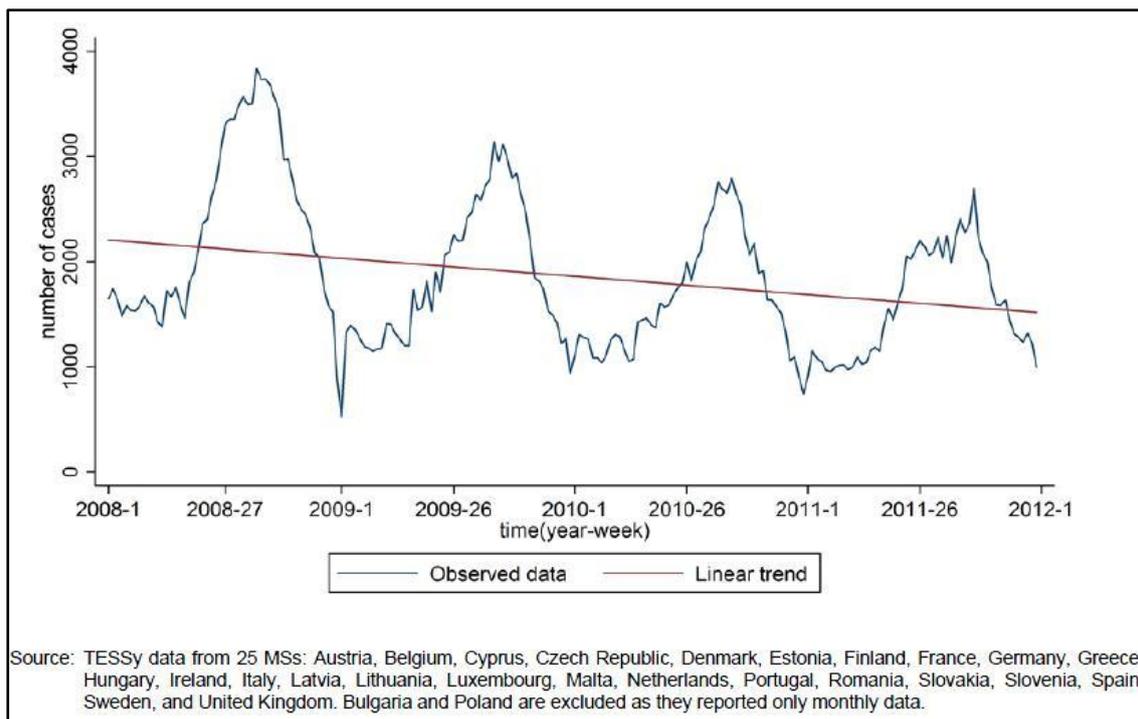


Figura 1.15. Tasa de notificación de casos humanos de salmonelosis en la UE, 2008-2011 (EFSA, 2013).

La distribución de los casos de *Salmonella* según la edad en el 2011 siguió los parámetros de los años anteriores. La tasa más elevada de notificación fue para los niños de entre 0 y 4 años (94,8 por 100.000 habitantes), que fue tres veces mayor que en niños más mayores (entre 5 y 14 años) y más de cinco veces mayor a la de los otros grupos de edad (a partir de 15 años). No se observaron diferencias entre hombres y mujeres (*European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2013*).

Existe una clara tendencia estacional para los casos de salmonelosis, con tasas que aumentan durante los meses estivales, alcanzando el pico en Agosto y Septiembre, para luego descender rápidamente (EFSA, 2011; Figura 1.16). Este patrón sugiere la influencia de la temperatura y del comportamiento (ej. Hábitos de consumo como la barbacoa) en las tasas de notificación de *Salmonella* (ECDC, 2013).

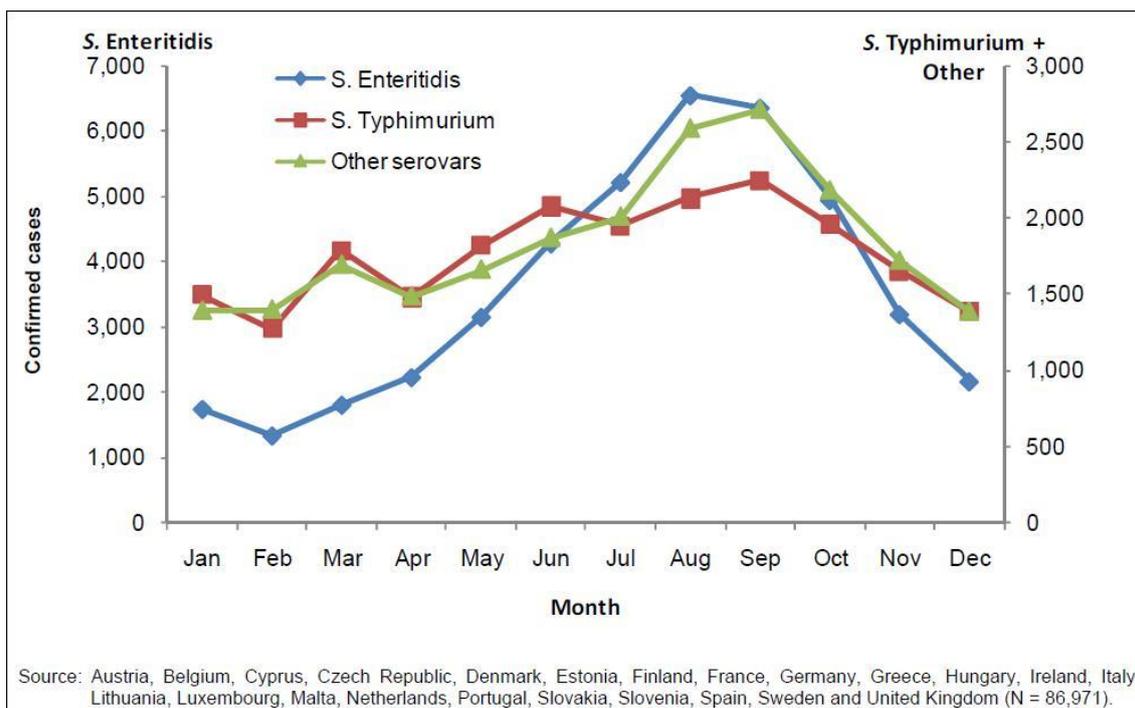


Figura 1.16. Número de casos confirmados de salmonelosis en humanos por mes y serotipo, base de datos TESSy de 23 EM, 2009 (EFSA, 2011).

Como en años anteriores, los dos serotipos de *Salmonella* registrados con mayor frecuencia en 2011 fueron *S. Enteritidis* (44,4%) y *S. Typhimurium* (24,9%). Esto representa casi el 70,0% de todos los serovares registrados de casos humanos en la UE (77.421 casos). El número de casos de *S. Enteritidis* disminuyó en un 5,7% (2.081 casos) comparado con 2010. Los casos de *S. Typhimurium* permanecieron estables o incluso aumentaron un 1,2% si incluimos *S. Typhimurium* monofásica (EFSA, 2013; Figura 1.17)

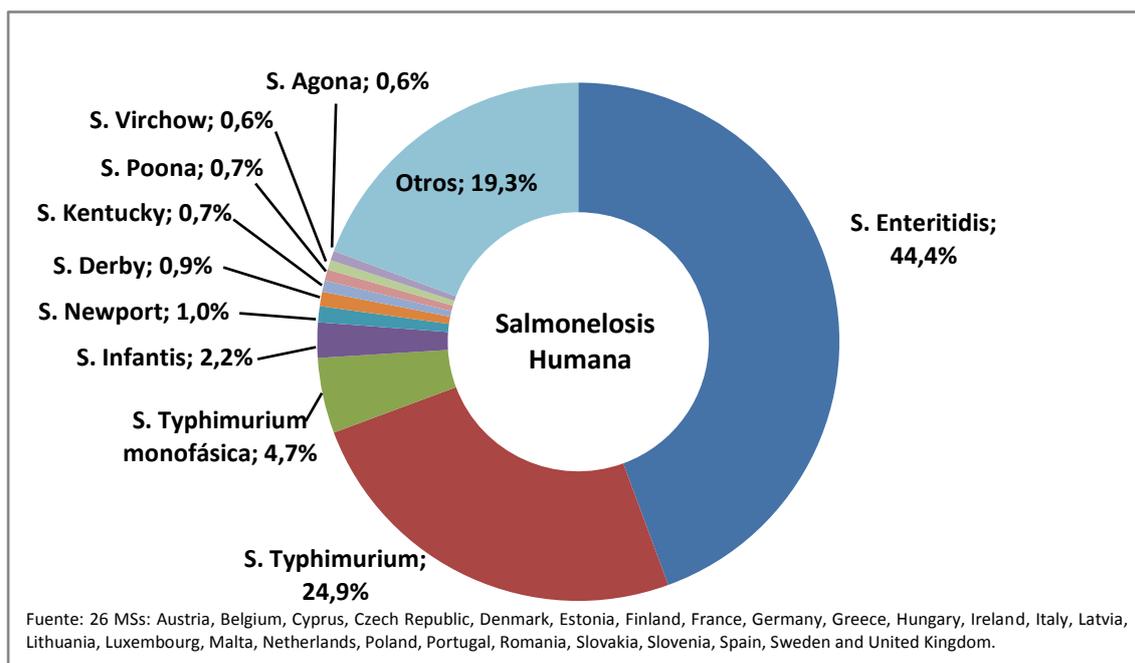


Figura 1.17. Distribución de los diez serotipos más comunes en humana en la UE, 2011 (EFSA, 2013).

C) La salmonelosis en España

Salmonella spp. es el agente implicado con mayor frecuencia en los brotes de origen alimentario en España y constituye la segunda causa de gastroenteritis bacteriana desde el año 2006, después de *Campylobacter* (BES, 2012; Figura 1.18).

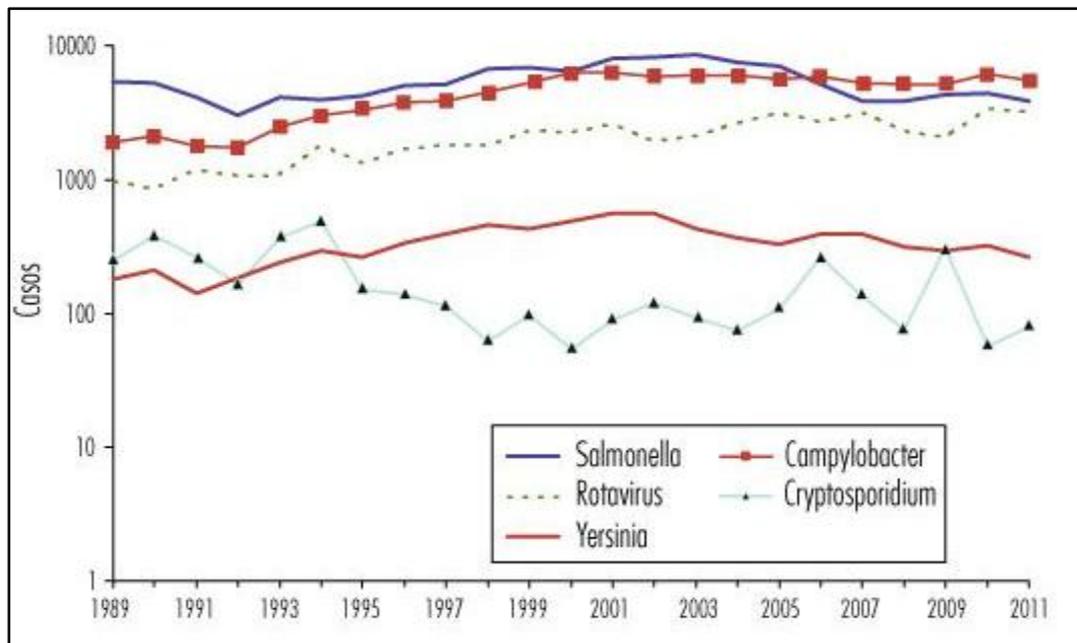


Figura 1.18. Tendencias de los microorganismos más relevantes causantes de infecciones gastrointestinales. Casos notificados al Sistema de Información Microbiológica. España 1989-2011 (BES, 2012).

Con el objetivo de describir las características epidemiológicas de la salmonelosis no tifoidea en España en cuanto al tipo de población afectada y a la tendencia de esta infección en el tiempo y su variación estacional se analizaron los datos recogidos en el Sistema de Información Microbiológica (SIM) de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica entre los años 2000 y 2008. La mediana de casos anuales notificados durante todo el periodo fue de 7.003 casos (rango: 3.833-8.671).

También se obtuvo información sobre los serotipos más prevalentes, siendo *S. Enteritidis* (62,3%) y *S. Typhimurim* (14,4%) los más frecuentes (BES, 2009a). En 2008, *S. Enteritidis* fue el serotipo declarado con más frecuencia, siguiéndole *S. Typhimurium* que experimentó un aumento del 24% con respecto a 2007 (BES, 2009b). Desde el año 2003 se está detectando una disminución constante del número de notificaciones de *S. Enteritidis*. Esta disminución también se ha detectado en el número de brotes notificados por este patógeno en España y en el número de notificaciones de salmonelosis en Europa, como se ha comentado anteriormente. En 2004 los entonces denominados Ministerios de Sanidad y Consumo, y de Agricultura, Pesca y Alimentación, presentaron conjuntamente un Programa de Control de *Salmonella* en Huevos y Ovoproductos y los resultados de este estudio parecen indicar que las

medidas de vigilancia, prevención y control contempladas en este programa fueron muy efectivas. La efectividad de las medidas de control no está tan clara en *S. Typhimurium*. El número de notificaciones de este serotipo no ha disminuido a lo largo del periodo de estudio sino que parece estar aumentando en el último año. Esto podría ser debido a que la transmisión para este serotipo no está tan asociada al consumo de huevos y ovoproductos contaminados y, por lo tanto las medidas de control podrían no ser tan efectivas. Además, esto puede indicar un reemplazo del serotipo *S. Enteritidis* por el serotipo *S. Typhimurium*. Por tanto, aunque los resultados de este estudio indican la efectividad de las medidas de control de la salmonelosis en nuestro país, este patógeno continúa siendo la causa principal de brotes de transmisión alimentaria y no todos los serotipos muestran el mismo comportamiento que *S. Enteritidis*. Por ello es necesario continuar con su vigilancia y realizar estudios más específicos para los diferentes serotipos de *Salmonella* (BES, 2009a).

En cuanto al comportamiento estacional de esta enfermedad, se observó que el mayor número de casos tenía lugar entre junio y septiembre (BES 2009a; Figura 1.19).

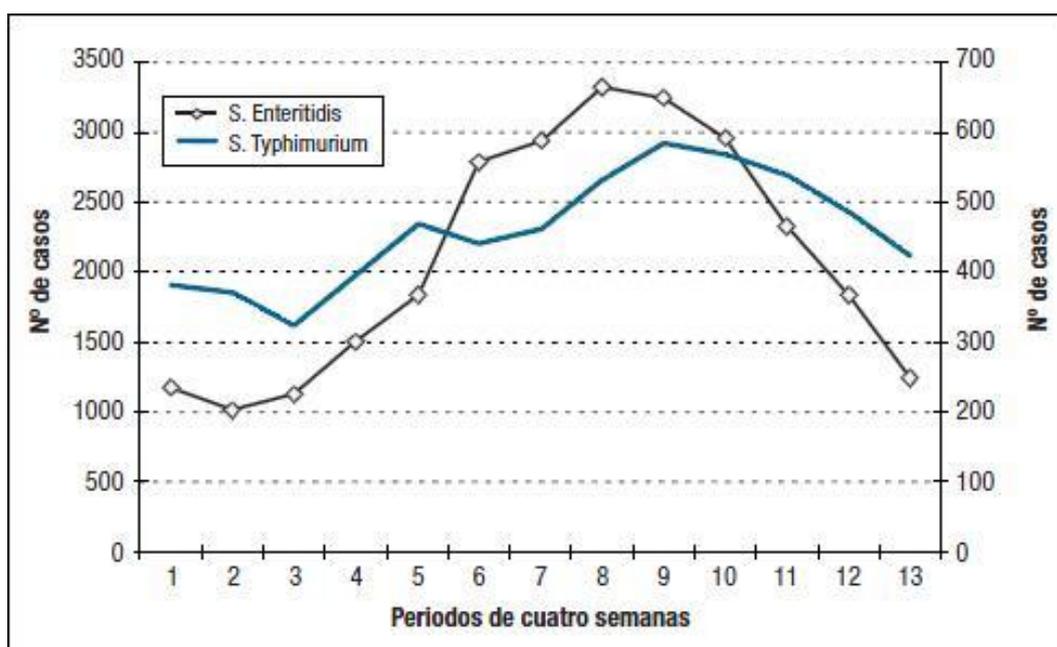


Figura 1.19. Distribución estacional de *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*. Sistema de Información Microbiológica. España, 2000-2008 (BES, 2009a).

En el mismo estudio se observó que la salmonelosis afecta por igual a ambos sexos y que referente a la edad, hay variaciones según el tipo de muestra recogida, aunque sigue siendo más prevalente en niños menores de 5 años (BES 2009a; Figura1.20).

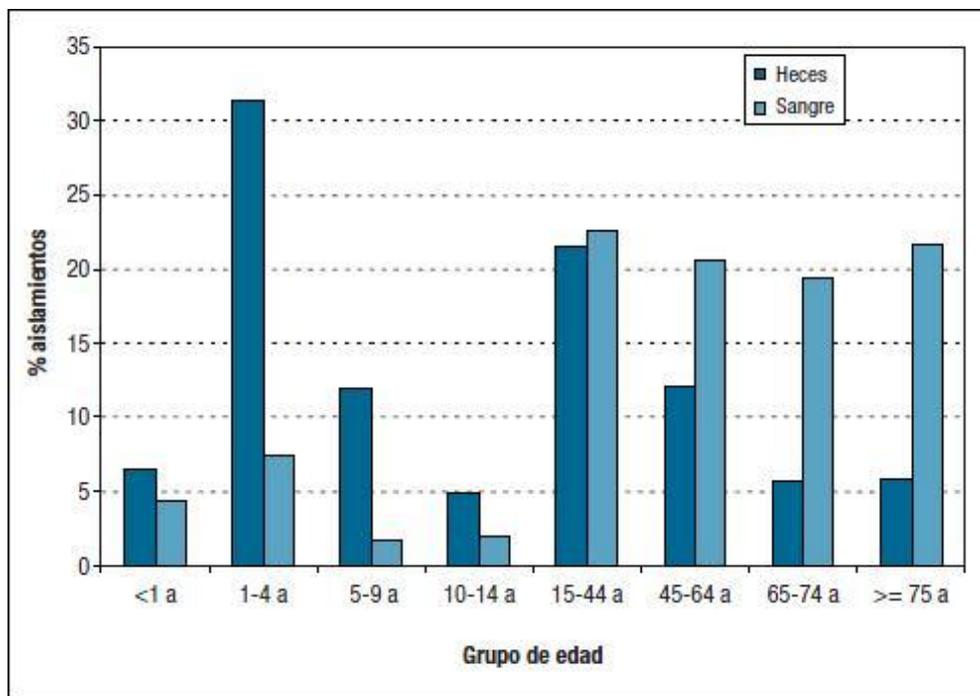


Figura 1.20. Distribución por grupo de edad y muestra de *Salmonella*. Sistema de Información Microbiológica. España, 2000-2008 (BES, 2009a).

Durante el año 2008, el Centro Nacional de Epidemiología junto con los responsables del Sistema de Información Microbiológica (SIM) de las Comunidades Autónomas acordaron un listado mínimo de microorganismos a vigilar y los criterios de notificación comunes para todo el territorio nacional. Dicha revisión se realizó en parte con el objetivo de adaptarse al listado de enfermedades a vigilar establecido por la Unión Europea. Se acordó un listado de 34 microorganismos que empezó a funcionar desde 2009, entre estos se encontraba *Salmonella* spp.

La información correspondiente al año 2011, procedente de la declaración de estos microorganismos, proviene de 72 laboratorios participantes de 12 Comunidades Autónomas. En el informe se habla de 3.833 casos de salmonelosis, de los cuales 1.004 casos eran causados por *S. Typhimurium* y 992 casos eran causados por *S. Enteritidis*, siendo los dos serotipos más frecuentes. En cuanto al sexo y edad de los afectados, continuó la misma tendencia que en años anteriores, es decir, el mayor número de cepas se aisló en niños menores de cinco años y no se observó una diferencia significativa en la distribución de los casos de salmonelosis en cuanto al sexo del paciente (BES, 2012).

1.3.1.3. La salmonelosis en el ámbito social y económico

Aunque el número de casos de salmonelosis humana ha descendido en los últimos años, aún sigue siendo elevado. Sin embargo, estos datos no reflejan la magnitud del problema, ya que muchos casos de salmonelosis no son registrados, debido principalmente a tres causas (EFSA, 2007):

- La persona enferma no acude al médico.
- La persona enferma acude al médico pero no se recoge una muestra para el análisis laboratorial.
- Los resultados obtenidos por el laboratorio no son comunicados a las autoridades pertinentes.

De los datos que se obtienen en EE.UU., se estima que en general, el 87,6% de los individuos con síntomas de salmonelosis se recuperan totalmente sin acudir al médico, el 12,4% va al médico y se recupera totalmente, el 1,0% requiere hospitalización, y el 0,03% de los pacientes morirá (*Economic Research Service (ERS)*, 2011).

La salmonelosis constituye un gran problema a nivel de Salud Pública y representa un coste significativo en muchos países. Muy pocos países publican datos sobre el coste económico que supone dicha enfermedad.

Los CDC de los EE.UU. calculan una tasa anual de 1.027.561 infecciones por *Salmonella* no tifoidea, lo que conlleva 126.457 visitas al médico, 19.336 hospitalizaciones y 378 muertes al año sólo en dicho país (CDC, 2011).

El coste que conlleva cada paciente con salmonelosis oscila aproximadamente entre 53 y 5,7 millones de dólares americanos, para casos sin complicaciones hasta casos que terminan con hospitalización y muerte, respectivamente. El coste total asociado a esta enfermedad se estima en 2.708 millones de dólares americanos al año en EE.UU. (en 2010) en concepto de atención médica, pérdida de productividad y muerte prematura (ERS, 2011; Tabla 1.3).

Tabla 1.3. Estimación del coste que genera *Salmonella* spp. en EE.UU.

ESTIMACIÓN DEL COSTE DE SALMONELOSIS EN EE.UU. EN 2010					
	No acuden al médico; sobreviven Grado 1	Acuden al médico; sobreviven Grado 2	Son hospitalizados; sobreviven Grado 3	Visitan al médico/ son hospitalizados; mueren Grado 4	Total (dólares)
Número de casos	1,224.547	157.738	14.487	415	1,397.187
Gastos médicos	0	63.426.608	176.196.471	4.573.250	244.196.329
Gastos de productividad	64.911.277	27.794.160	6.900.162	243.559	99.849.157
Muerte prematura	0	0	0	2.364.246.559	2.364.246.559
Coste total (dólares)	64.911.277	91.220.767	183.096.633	2.369.063.368	2.708.292.046
Coste promedio por caso (dólares), 2010	53	578	12.639	5.708.586	1.938

Fuente: ERS, 2011.

Respecto a Europa, tenemos datos de Dinamarca, donde se estima que el coste anual generado por salmonelosis provocada a través de los alimentos es de 15,5 millones de dólares americanos (en 2001), representando aproximadamente el 0,009% del GDP (PIB, en sus siglas en español). Se ha llevado a cabo durante varios años un programa de control de *Salmonella* en este país y se estima que su coste anual es de 14,1 millones de dólares americanos, pero se calcula que se ahorra 25,5 millones de dólares americanos anualmente de gasto público danés (WHO, 2005).

En los 1.501 brotes alimentarios registrados en la UE en el año 2011, se registraron un total de 11.394 casos de salmonelosis humana, con un total de 7.547 hospitalizaciones y 13 muertes. En España se registraron un total de 2.217 casos, con 270 hospitalizaciones y 5 muertes (EFSA, 2013).

Los países en vías de desarrollo no suelen publicar los datos relacionados con el coste que supone esta enfermedad de origen alimentario.

1.3.1.4. Alimentos implicados en los brotes de salmonelosis

La salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por los alimentos registrada con mayor frecuencia en todo el mundo. Una gran variedad de alimentos ha sido implicada en las enfermedades de transmisión por los alimentos debido a *Salmonella*, con las aves de corral como fuente principal (Bryan y Doyle, 1995; Humphrey, 2000).

En un estudio realizado en EE.UU. entre 1993 y 1997 (CDC, 2000), se observó que los vehículos alimenticios implicados en brotes de *Salmonella* spp. incluían los huevos, la carne de vaca, el pollo, el cerdo y el helado.

En la UE se registraron un total de 5.648 brotes alimentarios en 2011, resultando en 69.553 casos humanos, 7.125 hospitalizaciones y 93 muertes. *Salmonella* fue el agente causal detectado con más frecuencia (26,6%), seguido de toxinas bacterianas (12,9%), *Campylobacter* (10,6%) y virus (9,3%). Las fuentes alimentarias más importantes fueron los huevos y sus derivados (21,4%), la comida mixta (13,7%) y el pescado y sus derivados (10,1%). Además, se registraron 11 brotes relacionados con la contaminación de fuentes privadas o públicas de agua (EFSA 2013; Figura 1.21).

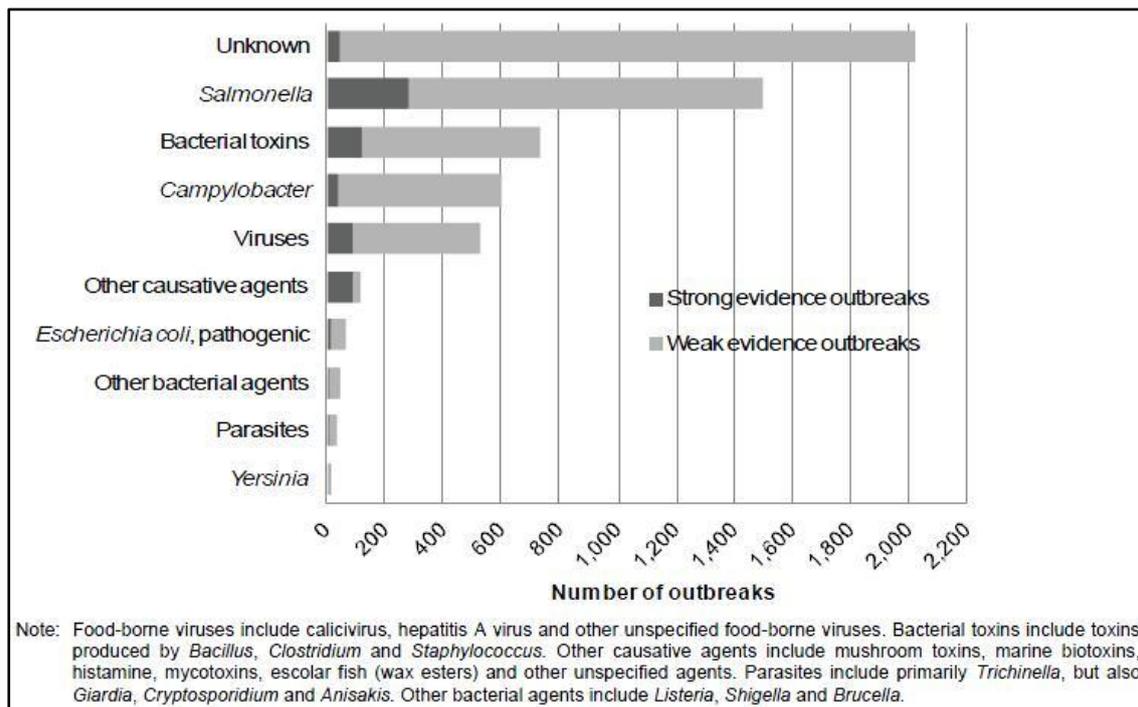


Figura 1.21. Distribución de los brotes alimentarios según el agente causal en la UE, 2011 (EFSA, 2013).

Salmonella spp. fue una vez más la causa registrada con mayor frecuencia en brotes de origen alimentario en la UE.

Como en años anteriores, en el 2011, los huevos y sus derivados fueron los vehículos asociados con mayor frecuencia con estos brotes, causando el 43,7% de todos los brotes verificados de *Salmonella*. La comida mixta fue la segunda fuente conocida de infección por *Salmonella* (7,4% de los brotes verificados), seguida por dulces y chocolate (6,7%). La carne de cerdo y sus derivados fueron el cuarto vehículo más importante en los brotes verificados de *Salmonella* (4,6%). En cambio, el porcentaje de brotes asociados con la carne de pollo y sus derivados descendió en comparación con el año anterior, del 5,3% en 2010 al 3,2% en 2011 (EFSA, 2013; Figura 1.22).

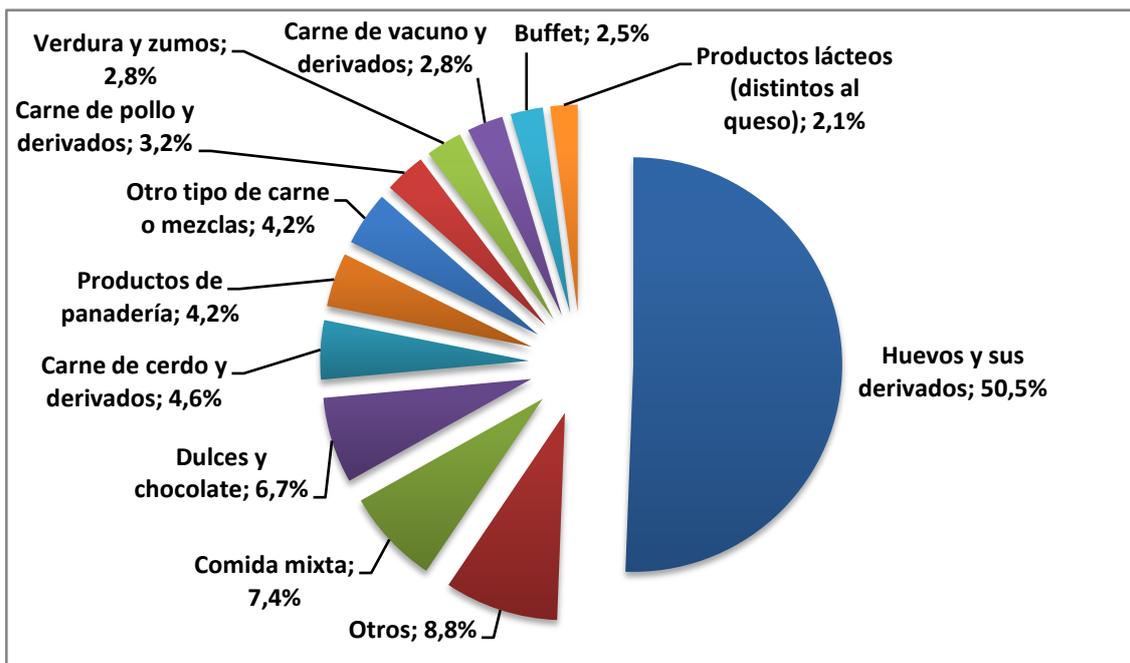


Figura 1.22. Distribución de los vehículos asociados a los brotes alimentarios de fuerte evidencia causados por *Salmonella* en la UE, 2011 (EFSA, 2013).

En Dinamarca, un estudio realizado en 2004 con el fin de establecer un modelo matemático para prever el origen de los brotes de salmonelosis, mostró que los alimentos con mayor probabilidad de causar un brote esporádico eran los huevos y la carne de cerdo, con unas probabilidades del 47,1% (95% C.I.: 43,3-50,8%) y del 9% (95% C.I.: 7,8-10,4%), respectivamente (Hald *et al.*, 2004).

Por otro lado, tras analizar las muestras de diferentes tipos de alimentos remitidas por la mayoría de EM y no EM en 2011, la EFSA publicó que *Salmonella* fue detectada con mayor frecuencia en la carne fresca de pollo (5,9%) y cerdo (0,7%). En los huevos se encontró un porcentaje muy bajo de *Salmonella* (0,1%). También fue detectada la bacteria en otros tipos de alimentos como carne de pavo, carne de bovino, leche y productos lácteos, frutas y verduras y pescado. Además, los productos no conformes con los criterios de *Salmonella* de la UE fueron principalmente observados en alimentos de origen cárnico, como en años anteriores. Las mezclas y preparados de carne de pollo destinados a comerse cocinados tuvieron el nivel más elevado de no conformidad (6,8% de las muestras individuales). También se encontró un alto porcentaje de no conformidad en mezclas y preparados de carne de otras especies distintas al pollo destinados a ser consumidos cocinados (1,1% de las muestras individuales) y productos cárnicos de pollo destinados a ser consumidos cocinados (1,1% de las muestras individuales). Además, se observó no conformidad en moluscos bivalvos vivos y equinodermos, tunicados y gasterópodos vivos, donde el 1,6% de las muestras individuales fueron no conformes. Fue de relevancia encontrar

Salmonella en comidas listas para el consumo como mezclas de carne y preparados cárnicos destinados a comerse crudo (1,4% de no conformidad en muestras individuales). En cambio, todas las muestras de productos a base de huevo y semillas germinadas listas para el consumo fueron conformes con los criterios de 2011 (EFSA, 2013).

En el estudio más reciente del equipo de análisis de riesgos biológicos de la EFSA denominado BIOHAZ (EFSA, 2012), se estimó una menor contribución de gallinas y huevos a los casos humanos mientras que los cerdos mostraron mayor contribución que en estudios anteriores. En dicho estudio, el modelo estimó que aproximadamente el 56,8% de los casos de salmonelosis en humana podrían ser atribuidos al cerdo, mientras que la contribución de todos los reservorios asociados a gallinas (huevos), pollos y pavos sería del 17,0%, 10,6% y 2,6%, respectivamente.

1.3.1.5. Marco legislativo comunitario y nacional

Con el fin de invertir la tendencia de aumento en los casos de zoonosis en la población de la UE, la Comisión Europea promulgó una Directiva (Directiva del Consejo 92/117/CEE) en el año 1992. En ella se regulaban las medidas de protección contra determinadas zoonosis y determinados agentes zoonóticos en animales y sus productos, con el objetivo de evitar brotes de infecciones e intoxicaciones de origen alimentario. En dicha Directiva se marcaron directrices a seguir por los EM para evaluar la situación anual de las zoonosis y agentes zoonóticos, como las tomas de muestras oficiales en inspecciones, las competencias de los Laboratorios de Referencia y la comunicación de ciertos resultados a la Comisión. Países nórdicos como Noruega, Suecia o Dinamarca interpretaron esta Directiva como un punto de partida para el desarrollo de planes nacionales de control-erradicación. En estos países la prevalencia de *Salmonella* spp. disminuyó, mientras que en los países en los que no se aplicaban planes de control aumentaba la prevalencia. Por este motivo, la Comisión Europea introdujo nuevas reglamentaciones en el año 2003:

- La Directiva 2003/99/CE para la monitorización y control de las zoonosis, en las que aparecen reglas detalladas para establecer una monitorización armonizada en toda la Comunidad Europea (CE). Esta Directiva derogó la anterior y en ella se marcó la obligatoriedad para cada EM de realizar programas de vigilancia, tanto en los casos humanos como en la producción primaria y en toda la cadena alimentaria (materias primas, pienso y huevos/carne), informando anualmente a la Comisión.
- El Reglamento (CE) Nº2160/2003 para el control de *Salmonella* spp. y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos, establece los objetivos comunitarios de reducción de prevalencias, marca los requerimientos básicos que deben incluir los planes nacionales de control de *Salmonella* spp. e

indica el procedimiento para realizar los citados controles. Este Reglamento tiene la finalidad de garantizar el que se adopten medidas apropiadas y eficaces para detectar y controlar *Salmonella* y otros agentes zoonóticos en todas las fases pertinentes de producción, transformación y distribución, en particular a nivel de producción primaria, incluidos los piensos, con objeto de disminuir su prevalencia y el riesgo que suponen para la salud pública.

En España, durante el año 2003 se publicó la Ley de Sanidad Animal (Ley 8/2003, del 24 de abril), donde se introdujeron aspectos de coordinación entre las Comunidades Autónomas con el fin de reducir y eliminar enfermedades que afecten a los animales y que también puedan afectar al hombre. La Directiva Comunitaria del año 2003 se traspuso a la legislación española el año siguiente (Real Decreto 1940/2004, del 27 de septiembre). En este Real Decreto sobre vigilancia de zoonosis en la producción primaria y comunicación de brotes en personas figuraban las primeras actuaciones para el control de *Salmonella* spp. en España. También se establecieron los laboratorios de referencia, y sus funciones, y el plan de vigilancia de resistencias de los agentes a los antimicrobianos.

El procedimiento general que se ha establecido comienza con la determinación de la prevalencia de *Salmonella* en la población objeto, luego se determina un objetivo de reducción de la prevalencia y por último se presentan y aprueban los programas de control, específicos para cada EM (AESAN, 2011).

Sucesivamente fueron publicándose Reglamentos fijando los objetivos a conseguir en los Programas de Control de *Salmonella* de las diferentes especies animales. El 1 de enero de 2007 se inició el Programa para el control de *Salmonella* en gallinas reproductoras de líneas pesadas (carne) y ligeras (huevos) con el objetivo de alcanzar un máximo del 1% de prevalencia (Reglamento (CE) Nº1003/2005). El siguiente año se inició el programa para el control de *Salmonella* en gallinas ponedoras con el único objetivo de reducir anualmente la prevalencia, sin un máximo (Reglamento (CE) Nº1168/2006). El 1 de enero de 2009 se inició el Programa en pollos de engorde con el objetivo de alcanzar un máximo del 1% de prevalencia de *Salmonella* (Reglamento (CE) Nº646/2007). Por último, el 1 de enero de 2010 se inició el Programa en pavos con el objetivo de alcanzar un máximo del 1% de prevalencia de *Salmonella* (Reglamento (CE) Nº584/2008). En el caso de piaras de cerdos de engorde y explotaciones de cerdas reproductoras se han realizado estudios de prevalencia de *Salmonella* a nivel europeo pero aún no se han fijado los objetivos y, por tanto, no se ha iniciado el Programa de Control de *Salmonella* a nivel nacional (MAGRAMA, 2014).

1.3.2. Importancia de la presencia de *Salmonella* en el sector porcino

La carne de cerdo es una de las principales fuentes de salmonelosis humana de origen alimentario (Berends *et al.*, 1998; Fedorka-Cray *et al.*, 2000), después de los huevos y la carne de pollo, siendo la fuente del 56,8% (48,2-65,8%) de los casos humanos (Steinbach y Hartung, 1999; EFSA, 2012). Por ello, la reducción del riesgo de *Salmonella* asociado con el cerdo puede contribuir significativamente a la protección de la salud humana.

Tanto la cantidad de carne de cerdo consumida como los hábitos de consumo son importantes a la hora de hablar del riesgo potencial de exposición a *Salmonella* que tienen los consumidores.

El mayor peligro para la salud de los consumidores es generalmente la exposición a la carne de cerdo cruda, que puede ser de forma directa o indirecta (EFSA, 2006). Aunque hay un estudio que demuestra la presencia de *Salmonella* en el 30% de las muestras de jamón cocido comercializado recogidas en 26 establecimientos de Brasil (n=40; Fai AEC *et al.*, 2011).

La forma directa consiste en la ingesta de carne cruda o poco cocinada. Es necesario tener en cuenta que en algunos países como Alemania y Dinamarca se consume directamente carne de cerdo picada cruda con especias, o en otros países como Francia, las salchichas y otras *delicatesen* se toman crudas, ahumadas o en salazón. También en España hay costumbre de ingerir productos cárnicos, generalmente embutidos, de manera cruda. El consumo de esta carne de cerdo no cocinada o cocinada mínimamente aumenta el riesgo de *Salmonella* (Mürmann *et al.*, 2011).

La forma indirecta consiste en la contaminación cruzada de otros alimentos. Los hábitos de higiene durante la elaboración de la comida y la educación del consumidor tienen una importante relevancia en este aspecto.

La legislación europea (Reglamento (CE) N°2160/2003) exige un control de la presencia de *Salmonella* en las explotaciones porcinas de todos los países europeos. La finalidad de dicho Reglamento es garantizar que se adopten medidas apropiadas y eficaces para detectar y controlar *Salmonella* y otros agentes zoonóticos en todas las fases pertinentes de producción, transformación y distribución, en particular a nivel de producción primaria, incluidos los piensos, con objeto de disminuir su prevalencia y el riesgo que suponen para la salud pública. El incumplimiento de esta normativa implicará el cierre de mercados, con las consiguientes pérdidas económicas en el sector.

Según la EFSA (2012), todos los serotipos de *Salmonella* aislados del cerdo deben ser considerados como un riesgo para la Salud Pública.

En la actualidad, el serotipo aislado con mayor frecuencia a nivel europeo en el cerdo es *S. Typhimurium*, tanto en el animal como en su carne (Figura 1.23). Éste es el mayor causante de infecciones humanas por *Salmonella* de origen alimentario procedente de cerdo. No obstante, el serotipo más frecuente a nivel europeo en humanos es *S. Enteritidis* (44,4%), ligado principalmente al consumo de huevos, ovoproductos y otros alimentos que contienen huevo crudo (EFSA, 2013).

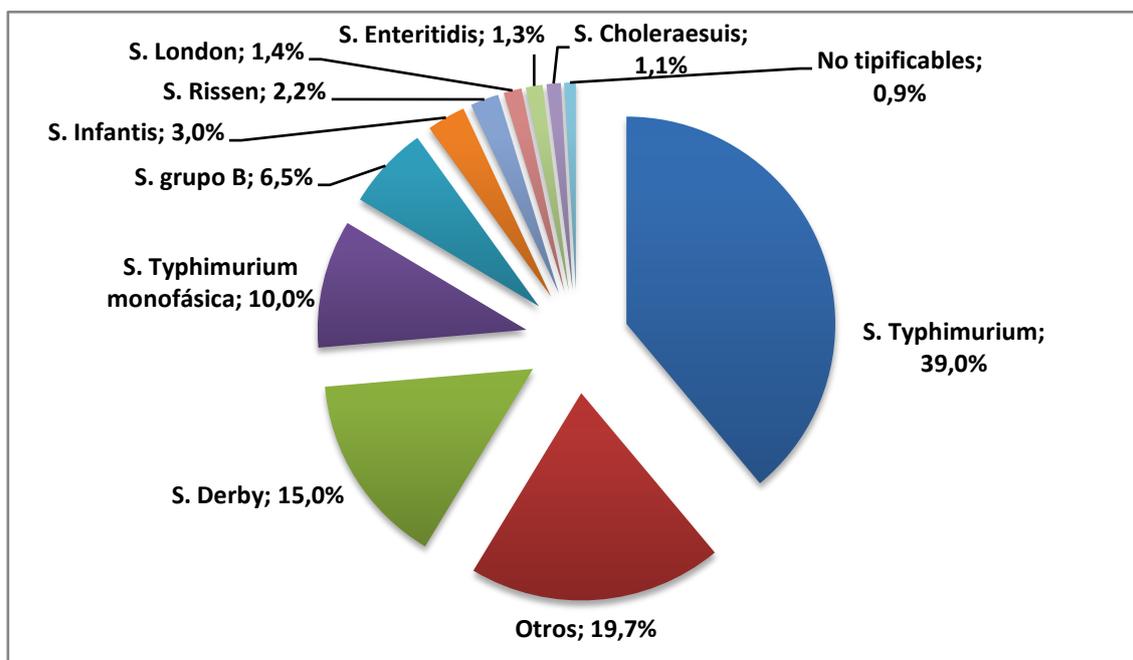


Figura 1.23: Distribución de los 10 serotipos de *Salmonella* spp. más frecuentes aislados en el cerdo y en la carne de cerdo en 2011 (EFSA,2013).

En un estudio realizado en Alemania, cepas de *S. enterica* serovar 4,[5],12:i:– aisladas de cerdos, carne de cerdo y humanos estuvieron altamente relacionadas, mostrando su transmisión a lo largo de la cadena alimentaria. El repertorio genético de patogenicidad es muy similar a *S. enterica* serovar Typhimurium por lo que en este estudio recalcan la necesidad de intervenir a nivel de las explotaciones con el objetivo de limitar la infección humana (Hauser et al., 2010). Los mismos autores publicaron el mismo estudio un año después con *S. Derby*, llegando a la misma conclusión (Hauser et al., 2011).

1.3.2.1. La salmonelosis en el cerdo

La salmonelosis porcina es una infección que presenta una doble importancia: sanitaria y económica. Desde el punto de vista sanitario, la presentación de un brote de salmonelosis en una explotación porcina en cualquiera de sus formas puede representar un elevado porcentaje de bajas, especialmente en la forma septicémica. Por otro lado, puede suponer una disminución en el índice de producción tanto en animales asintomáticos como en los animales supervivientes a la enfermedad, puesto que estos últimos presentan un retraso en el crecimiento, y los gastos de medicación para controlar el brote pueden ser elevados. Afortunadamente, el problema sanitario que provoca la salmonelosis en las explotaciones porcinas españolas es muy limitado. (Mainar-Jaime y Creus, 2010).

A) Epidemiología

La epidemiología de la infección por *Salmonella* se caracteriza por su complejidad. Por una parte, las múltiples vías de entrada y diseminación del patógeno entre y dentro de las explotaciones y, por otra, su gran capacidad para sobrevivir y multiplicarse dentro de un amplio rango de sustratos y condiciones ambientales, dificultan enormemente establecer un modelo o patrón único de infección extrapolable a todas las granjas (Creus y Mainar-Jaime, 2010).

Además, se trata de una infección que puede mostrar una gran variabilidad dentro de una misma explotación. Es frecuente observar variación en la distribución de la prevalencia de un cebo a otro, de acuerdo al grupo de edad de los animales e incluso entre naves o salas de la misma. No obstante, sí que existen unas pautas generales que permiten describir la dinámica de transmisión de la infección en las explotaciones y que serán expuestas a continuación.

Existen unas fases formuladas por la OMS con el objetivo de identificar las opciones de disminuir el riesgo en el control de *Salmonella spp* a lo largo de la cadena de producción (WHO, 1980).

Se podría describir una primera fase, a nivel de la producción animal, en el que se ven implicados tanto los animales de granja como animales salvajes y domésticos, las materias primas y el medio ambiente. En una segunda fase encontramos el momento de sacrificio de animales y el procesado de la carne. Por último, en la tercera fase nos encontramos en el nivel de las industrias y del consumidor, que dependen de la educación para la aplicación de medidas higiénicas (Figura 1.24).

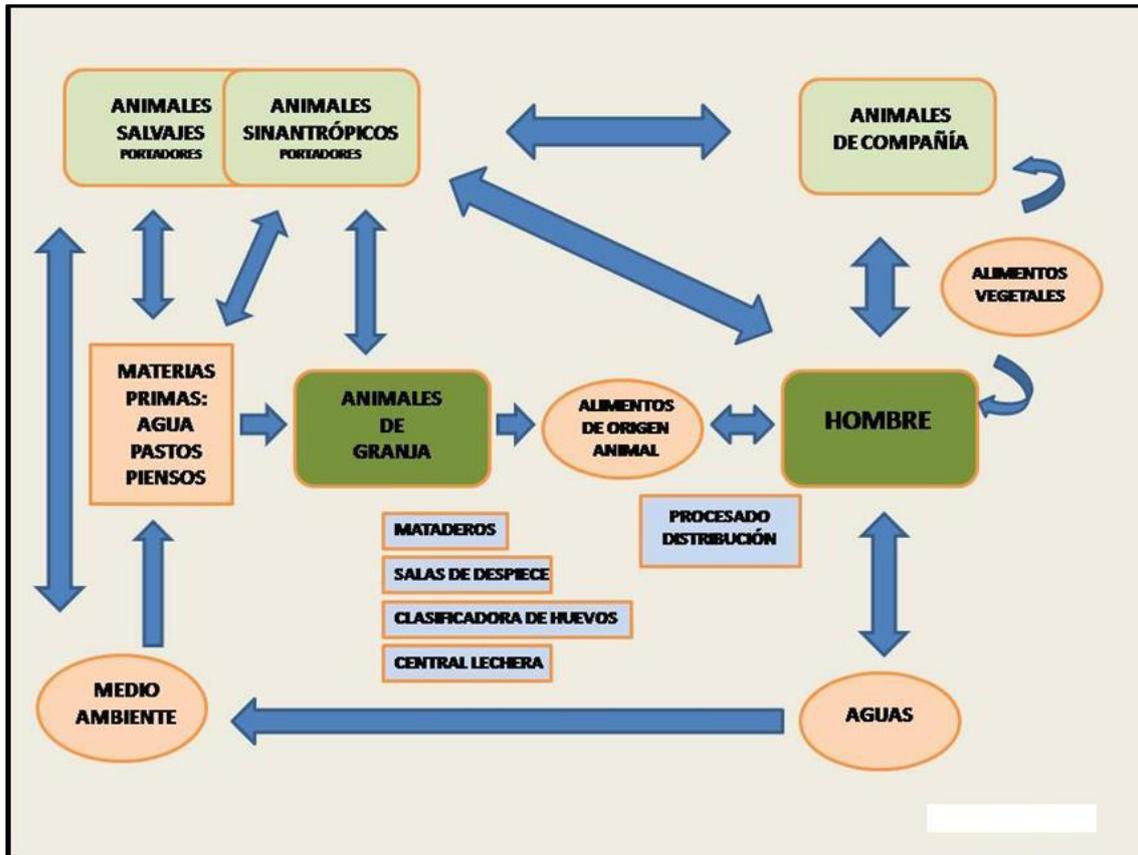


Figura 1.24: Ciclo epidemiológico de *Salmonella* spp. a lo largo de toda la cadena de producción de alimentos (Domínguez *et al.*, 2006).

En la epidemiología de *Salmonella* spp. intervienen muchos factores interdependientes que determinan la presencia de esta bacteria en el medio ambiente, facilitando la circulación de modo directo o indirecto entre todos los eslabones de la cadena de producción de alimentos. Esta es la causa por la que se hace tan difícil su lucha y control (Domínguez *et al.*, 2006).

Además, la epidemiología de esta enfermedad es compleja porque difiere enormemente la prevalencia de infección y la incidencia de la enfermedad clínica dependiendo de áreas geográficas, clima, métodos de explotación, etc. (Fernández *et al.*, 2006).

La propagación de la infección en la misma granja se produce mediante animales enfermos o animales portadores que contagian a los animales de su entorno así como al medio ambiente (alimento, agua, suelos, etc.) a partir de las heces.

La diseminación de la infección a otras granjas se produce por la entrada de animales portadores, que en el momento de la entrada sufren un gran estrés y aumentan la eliminación de *Salmonella* spp. e incluso pueden sufrir la enfermedad

clínica, o por la entrada a través de la contaminación de pienso, agua y vectores (roedores, aves, etc.) (Fernández *et al.*, 2006). Más adelante se hará una revisión más detallada de cada uno de estos factores.

La infección por *Salmonella* no es una causa suficiente para contraer la enfermedad, sino que depende de la dosis infectiva, virulencia de las cepas, estado inmunitario, edad del hospedador, etc.

Por lo general, para padecer la enfermedad es necesario algún factor desencadenante y en el caso de la salmonelosis el factor más importante es el estrés. Los factores de estrés que se han observado y que influyen en el desencadenamiento de la enfermedad son, entre otros, el calor, el frío, la mezcla de animales de diferentes orígenes, cambios de alimentación, enfermedades concurrentes, la entrada de cerdas en salas de parto, el destete de lechones, el transporte, el hacinamiento y la privación de alimento o agua (McGlone, 1993; Sutherland, 2006).

B) Transmisión

Salmonella spp. se propaga por contacto directo a través de animales infectados (heces o aerosoles), o indirecto por contaminación del medio ambiente (alimento, agua, vectores, suelo, etc.; Fernández *et al.*, 2006). La ruta de infección de *Salmonella* es normalmente la vía feco-oral, pero también se ha descrito la infección a través de mucosas (conjuntiva, mucosa respiratoria, etc.), soluciones de continuidad y por inhalación (Domínguez *et al.*, 2006).

Teniendo en cuenta estas vías de infección, no es difícil entender el papel destacado de muchos fómites y vectores en la diseminación del patógeno, tanto entre explotaciones como dentro de ellas (Creus y Mainar-Jaime, 2010).

C) Patogenia

Muchos de los factores de patogenicidad permanecen sin explicación, particularmente la relación entre las toxinas de *Salmonella* y el daño celular que producen.

Tras la infección, generalmente por vía oral, dosis altas de bacterias ($> 10^5$) sobreviven a la lactoperoxidasa de la saliva, al pH ácido de los jugos gástricos y a la acción bacteriostática de las sales biliares, alcanzando el intestino delgado. Tras atravesar la pared intestinal (íleon distal y ciego), invaden los ganglios linfáticos mesentéricos, donde suelen acantonarse. La progresión a partir de aquí depende de factores como el estado inmunitario del animal, estrés, virulencia de cepas, etc. (Fernández *et al.*, 2006; Mainar-Jaime y Creus, 2010).

La virulencia de *Salmonella* se relaciona con su capacidad de invadir las células hospedadoras, replicarse en su interior y resistir tanto la acción de las Ig A de la mucosa intestinal como la digestión de los fagocitos y la destrucción por acción del Complemento. Esto facilita la difusión de *Salmonella* por el organismo del hospedador (Fernández *et al.*, 2006).

En los casos subclínicos, la infección queda localizada en los ganglios linfáticos mesentéricos. En otros casos, pueden llegar a evadir las defensas intracelulares, pasar a sangre, multiplicarse en los macrófagos y, por esa vía, alcanzar el hígado, el bazo, los pulmones, etc., y provocar una infección generalizada y septicemia (Mainar-Jaime y Creus, 2010).

Una vez que se ha establecido la infección sistémica, la salmonelosis se puede establecer como enfermedad clínica (Fernández *et al.*, 2006).

Los cerdos infectados portan *Salmonella* principalmente en las tonsilas, el tracto intestinal y los ganglios linfáticos mesentéricos, y no se detectan mediante las inspecciones rutinarias en los mataderos (Mainar-Jaime y Creus, 2010).

D) Manifestaciones clínicas

La salmonelosis porcina es una enfermedad que afecta con mayor frecuencia a cerdos en fase de transición y engorde, aunque de forma más o menos esporádica. También puede observarse en las reproductoras. Esta enfermedad puede ser subclínica o puede manifestarse de dos formas clínicas: septicémica y entérica.

La **salmonelosis subclínica** es la más frecuente en nuestro sistema de producción actual, con estados de portador asintomático. El estado de portador se produce porque *Salmonella* es un organismo intracelular facultativo que sobrevive en los fagolisosomas de los macrófagos, pudiendo eludir así los efectos de los anticuerpos y del complemento. La persistencia del estado de portador es la característica más importante desde el punto de vista epidemiológico.

Los portadores pueden ser activos, con eliminación constante o intermitente de *Salmonella*, o latentes en los que *Salmonella* suele estar en ganglios linfáticos (mesentéricos y amígdalas palatinas) sin eliminación de la misma. El estado de portador tiene una gran importancia a nivel de contaminación de otros animales y del medio ambiente; además, estos animales pueden sufrir la enfermedad en el caso de someterlos a estados de estrés. Los portadores también tienen una gran importancia a nivel zoonótico por la contaminación fecal de las canales en el matadero (Fernández *et al.*, 2006; Mainar-Jaime y Creus, 2010).

La mayoría de las infecciones por *Salmonella* Typhimurium cursan de forma asintomática y no son reconocibles ni en el cebadero ni tras el sacrificio en matadero, por lo que no suelen resultar un problema sanitario importante para el ganadero (Mainar-Jaime y Creus, 2010).

La **forma septicémica** se da principalmente en cerdos menores de 5 meses de edad y suele ser letal. Puede presentar una gran variedad de síntomas, aunque los más constantes son fiebre elevada (mayor de 41 °C), cianosis de orejas y respiración dificultosa. Sin embargo, la manifestación predominante son las hemorragias diseminadas, dada la naturaleza sistémica de la infección. Los animales que sobreviven a esta forma clínica quedan como portadores y pueden eliminar la bacteria durante al menos 12 meses mediante las heces. Habitualmente, esta forma está causada por *S. Choleraesuis*.

También, Fedorka-Cray *et al.* (1994), describen que *S. Typhimurium* puede desarrollar un cuadro septicémico en cerdos. La importancia de la salmonelosis por *S. Choleraesuis* varía mucho en diferentes zonas geográficas, siendo muy poco frecuente en Europa, al contrario de lo que sucede en los Estados Unidos, donde éste es el serotipo más frecuente en el cerdo. En España, su aislamiento es escaso aunque Pérez *et al.* (1999) describió un brote en una granja de jabalíes, y Darwich *et al.* (1999:2000) y Mateu *et al.* (2002) describieron algunos casos en cerdos convencionales. Las razones para esta diferencia de presentación geográfica se desconocen, pero pueden estar relacionadas con prácticas de manejo (Fedorka-Cray *et al.*, 2000).

La **forma entérica (enterocolitis)** es más frecuente en cerdos desde el destete hasta aproximadamente los 4 meses de edad. En adultos es menos frecuente, pero pueden existir muchos animales infectados de forma subclínica. Esta forma clínica puede tener un curso agudo o crónico, aunque normalmente se trata de cuadros agudos. La vía fecal-oral es el modo más probable de transmisión.

Los principales signos de la enfermedad son la fiebre elevada y la diarrea profusa, que dura en los casos agudos entre 3-7 días y pueden producirse recaídas. La mayoría de las bajas se producen por una deshidratación intensa o por el desarrollo de una septicemia. En el mejor de los casos, el proceso suele ser autolimitante. Los cuadros entéricos están causados principalmente por *S. Typhimurium*. Esto puede ser debido a la alta capacidad infectiva de este serotipo (Fedorka-Cray *et al.*, 1994), junto a unas pobres medidas de higiene que pueden existir en las granjas, lo que permite la exposición de los animales a altas dosis del microorganismo. Mateu *et al.* (2002), que ha descrito esta forma clínica en España, observó que otros serotipos (denominados "exóticos" por algunos autores) pueden causar este cuadro entérico en el cerdo, pero no son capaces de volverse estables en los rebaños porcinos (Baggesen *et al.*, 1996).

Al mismo tiempo, una elevada densidad de población de animales, el estrés del transporte y la enfermedad intercurrente pueden aumentar la difusión por los animales portadores así como la susceptibilidad de los cerdos expuestos. La infección por lo general se difunde rápidamente. Ésta se produce en las primeras semanas después de la llegada de cerdos a una nave o de la mezcla de grupos de cerdos dentro de la nave, y puede llegar a alcanzar un máximo del 80-100% del efectivo (Thomson, 2002).

1.3.2.2. Prevalencias de *Salmonella* en el sector porcino

A) La salmonelosis porcina en la Unión Europea

Durante los últimos años se han realizado numerosos estudios bacteriológicos y serológicos en diversos países para determinar la prevalencia de *Salmonella* en el cerdo. Tradicionalmente, el método analítico más utilizado se ha basado en el cultivo bacteriológico de muestras de heces recogidas en granja o en el matadero. Sin embargo, la determinación y clasificación de las granjas en función de su seroprevalencia se ha extendido considerablemente en la actualidad.

De los datos obtenidos a partir de la bibliografía, se puede observar que la prevalencia bacteriológica para *Salmonella* en las explotaciones porcinas de diferentes países es muy variable. Mientras que en Dinamarca y Holanda se ha descrito un 11,4% y un 23% de granjas positivas, respectivamente (Christensen *et al.*, 2002; van der Wolf *et al.*, 1999), en otros países como Francia e Italia se ha descrito un 36,2% y un 36,8%, respectivamente (Fablet *et al.*, 2003; Ricci *et al.*, 2005). Además, en estudios realizados en Irlanda y Hungría el porcentaje de explotaciones positivas alcanzó el 50,8% y el 54,8%, respectivamente (Rowe *et al.*, 2003; Biksi *et al.*, 2007). En países fuera de la UE como Estados Unidos, Canadá y Corea el porcentaje se situaría en un 83%, 66,7% i 51,1%, respectivamente (Davies, P.R. *et al.*, 1997; Rajic *et al.*, 2005; Suh y Song, 2005).

En cuanto al nivel de prevalencia bacteriológica individual, se ha descrito un porcentaje de portadores subclínicos de 2,1%, 1,4% y entre 1 y 4% en Dinamarca, Grecia y Noruega, respectivamente (Stege *et al.*, 2000; Grafanakis *et al.*, 2001; Sandberg *et al.*, 2002). Sin embargo, en Holanda se ha descrito una prevalencia individual del 12% (Davies, P.R. *et al.*, 1998). En países fuera de la UE, como Estados Unidos y Japón, se han descrito prevalencias del 17,6% y 9,8%, respectivamente (van der Wolf *et al.*, 1999; Asai *et al.*, 2002).

Los resultados de seroprevalencia en las explotaciones también oscilan ampliamente entre los diferentes estudios. En Dinamarca y Grecia los niveles de seroprevalencia se sitúan en un 47% y un 35,6%, respectivamente (Mousing *et al.*, 1997; Grafanakis *et al.*, 2001). En muestreos realizados en Holanda en los años 1996 y

1999 se obtuvieron unos valores de seroprevalencia del 23,7% y 24,5%, respectivamente (van der Wolf *et al.*, 2001b). En el año 2003, se obtuvo en Austria un nivel de seroprevalencia del 5,2% en sus explotaciones de engorde (Köfer *et al.*, 2006). En países fuera de la UE, como Japón y Estados Unidos, los niveles se sitúan en un 67,3% y 19%, respectivamente (Asai *et al.*, 2002; O'Connor *et al.*, 2006).

Como se ha podido observar, se han realizado numerosos estudios en diferentes países con el fin de determinar los niveles de prevalencia de *Salmonella* en el sector porcino y, en general, existe una amplia variación en cuanto a los resultados descritos.

Se debe ser muy cauto a la hora de comparar diferentes estudios epidemiológicos. En relación a estudios bacteriológicos, se deben tener en cuenta varios factores relacionados con el método de muestreo. El método de cultivo empleado es un factor muy importante que se ha tratado en apartados anteriores. Otro factor que podría limitar la sensibilidad del estudio es el carácter intermitente de la excreción de *Salmonella* en heces de los animales infectados de forma subclínica (Hurd *et al.*, 1999). La cantidad de muestra recogida también influye, puesto que la sensibilidad de los métodos bacteriológicos se incrementa significativamente cuanto mayor es la cantidad de muestra analizada (Funk *et al.*, 2000). Por último, el lugar de recogida de las muestras resulta igualmente importante. Los resultados bacteriológicos de las muestras que se obtienen en el matadero podrían sobreestimar la prevalencia en granja puesto que durante el transporte y la espera en el matadero los animales pueden infectarse debido al contacto con otros animales y el ambiente contaminado de los camiones y los corrales (Hurd *et al.*, 2001; 2002; 2003; Gebreyes *et al.*, 2004). En concreto, el tiempo necesario para que una infección inicial de *Salmonella* en tonsilas se pueda aislar finalmente en heces se calcula que es de dos horas (Hurd *et al.*, 2001). Por otro lado, los resultados obtenidos del muestreo en granja no tendrían en cuenta el porcentaje real de animales que, siendo portadores, no eliminarían la bacteria en heces en ese momento. En relación con los estudios serológicos, tanto el origen de la muestra analizada como el tipo y el punto de corte del ELISA utilizado son factores adicionales que pueden influir en los valores de prevalencia obtenidos, como ya se ha visto en anteriores apartados.

Las diferencias propiamente geográficas y las ligadas a los diferentes sistemas de producción entre países, así como la falta de información sobre cómo se ha llevado a cabo el muestreo explicarían parte de esta variación y dificultarían, entonces, el establecimiento de comparaciones entre estudios.

En el año 2008, la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) publicó los resultados obtenidos por el programa de vigilancia llevado a cabo en la UE entre 2006 y 2007 de acuerdo con el Reglamento Nº2160/2003 (EFSA, 2008). El principal objetivo de este estudio era estimar, a nivel de matadero, la prevalencia de cerdos infectados

con *Salmonella* en la UE así como en cada EM. El procedimiento a seguir para la recogida de muestras y posterior análisis fue detallado para obtener datos comparables para todos los EM. Los cerdos muestreados tenían un peso en vivo entre 50 y 170 Kg y representaban, al menos, el 80% de la producción total de cerdos sacrificados por los EM. Para estimar dicha prevalencia se tomaron al menos 5 nódulos linfáticos ileocecales con un peso mínimo de 15 g de cada uno de los cerdos seleccionados al azar en el matadero, según establece la Decisión 2006/668/CE del 29 de septiembre de 2006. Las muestras bacteriológicas se analizaron en el Laboratorio Nacional de Referencia utilizando el método ISO 6579 (Anexo D). Todas las cepas de *Salmonella* fueron serotipadas según el esquema de Kaufmann-White. En total, tras validar los resultados, se incluyeron en el análisis 18.663 nódulos linfáticos que correspondían a 18.751 cerdos sacrificados en la UE. A esta cifra se le añadieron los 408 nódulos linfáticos de 408 cerdos sacrificados procedentes de Noruega.

La prevalencia de infección de *Salmonella spp.*, obtenida a partir del análisis de los nódulos linfáticos de cerdos a nivel de la UE junto con Noruega, fue de 10,3%. Entre los EM, la prevalencia varió entre 0,0% y 29,0%, siendo España el EM con la prevalencia más alta (29,0%). Finlandia, Suecia y Noruega fueron los EM con menor prevalencia (0,0%, 1,3% y 0,3%, respectivamente), países que tienen programas de vigilancia de *Salmonella spp.* en porcino desde 1960 (Creus, E. 2007; EFSA, 2008; Figura 1.25).

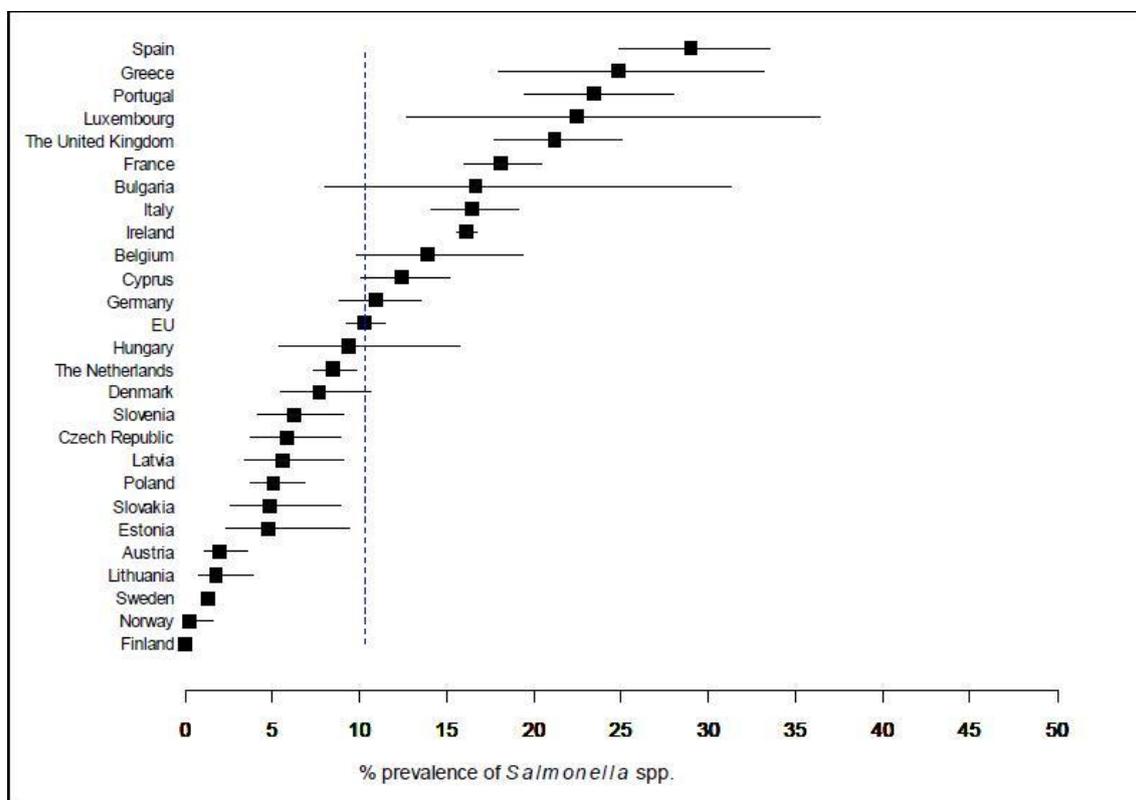


Figura 1.25: Prevalencia observada en los nódulos linfáticos de los cerdos sacrificados infectados con *Salmonella*, con un intervalo de confianza del 95%, en la UE y Noruega, 2006-2007 (EFSA, 2008).

En el mismo estudio, hubo 13 EM que tomaron muestras de forma voluntaria de las superficies de las canales. El muestreo se realizaba, siguiendo unas pautas claramente descritas, sobre una superficie de 100 cm² repartida en cuatro zonas determinadas de la canal con una esponja o toallita húmeda (Decisión 2006/668/CE). En este caso, la prevalencia observada fue del 8,3%, variando entre 0,0% y 20,0%. Irlanda fue el EM con mayor prevalencia (20,0%). Suecia volvió a ser uno de los países con menor prevalencia (0,0%), Finlandia y Noruega no participaron. España tampoco participó en este estudio (EFSA, 2008).

S. Typhimurium y *S. Derby* fueron los serotipos más predominantes. *S. Typhimurium* fue el serotipo aislado con mayor frecuencia de los nódulos linfáticos de cerdos sacrificados en la UE y Noruega, aislado en un 40,0% de los cerdos sacrificados positivos a *Salmonella spp.* *S. Derby* fue el segundo serotipo más frecuente, aislado en el 14.6% de los cerdos positivos sacrificados. Estos dos serotipos son comúnmente encontrados en casos de humana con infección por *Salmonella spp.*, y ambos se encuentran entre los diez serotipos más frecuentemente notificados en humanos (EFSA, 2013). *S. Rissen* y *S. 4,[5],12:i:-* fueron el tercer y cuarto serotipo más frecuente (5.8% y 4.9%, respectivamente). *S. Rissen* fue el segundo serotipo más frecuente en España y Portugal. El quinto serotipo más frecuente fue *S. Enteritidis* (EFSA, 2008).

Desde Enero de 2008 hasta Diciembre del mismo año, se llevó a cabo un programa de vigilancia de *Salmonella* similar en explotaciones de cerdas reproductoras a nivel de la UE. Participaron 24 EM y 2 no EM (Finlandia y Suiza). Dicho estudio fue llevado a cabo según el Reglamento (CE) Nº2160/2003, con el objetivo de obtener datos comparables de todos los EM mediante esquemas de muestreo comunes, como en el caso anterior. Las explotaciones fueron seleccionadas al azar a partir de una población que constituyera, al menos, el 80% de la población de cerdas reproductoras de cada EM. El estudio distinguió entre explotaciones de reproductoras exclusivamente (núcleos o explotaciones de cerdas multiplicadoras) y explotaciones de producción de lechones, ya sea hasta el final, hasta destete o hasta cebo. Las explotaciones de reproducción venden lechones de futuras hembras o machos reproductores. Por el contrario, las explotaciones de producción venden principalmente cerdos para engorde o sacrificio en matadero. Los cebaderos y las explotaciones de engorde desde el destete no fueron incluidos en este estudio (EFSA, 2009). En cada explotación, se tomaron diez muestras de heces frescas constituidas por una mezcla de heces de 10 corrales elegidos al azar y que representaran las diferentes etapas del ciclo productivo de la cerda, según establece la Decisión 2008/55/CE del 20 de diciembre de 2007. Se analizaron un total de 1.430 explotaciones de reproducción y 3.211 explotaciones de producción con cerdas reproductoras de 24 EM.

La prevalencia de explotaciones de cerdas reproductoras (explotaciones de abuelas y de madres) positivas a *Salmonella* en la UE fue del 31,8%. Esto significa que, aproximadamente, una de cada tres explotaciones con cerdas reproductoras fue positiva a *Salmonella*. Se estimó que el 7,0% de las explotaciones fueron positivas a *S. Typhimurium*, el 9,0% fueron positivas a *S. Derby* y el 19,8% fueron positivas a otros serotipos. En Finlandia y en Noruega no se detectó *Salmonella* en las explotaciones muestreadas.

En el caso de las explotaciones de abuelas, la prevalencia a nivel de la UE fue de 28,7%, aunque varió ampliamente entre los EM. En España se encontró la prevalencia más elevada (64%). En Estonia, Finlandia, Lituania, Eslovenia y Noruega ninguna de las muestras tomadas resultó positiva (EFSA, 2009; Figura 1.26).

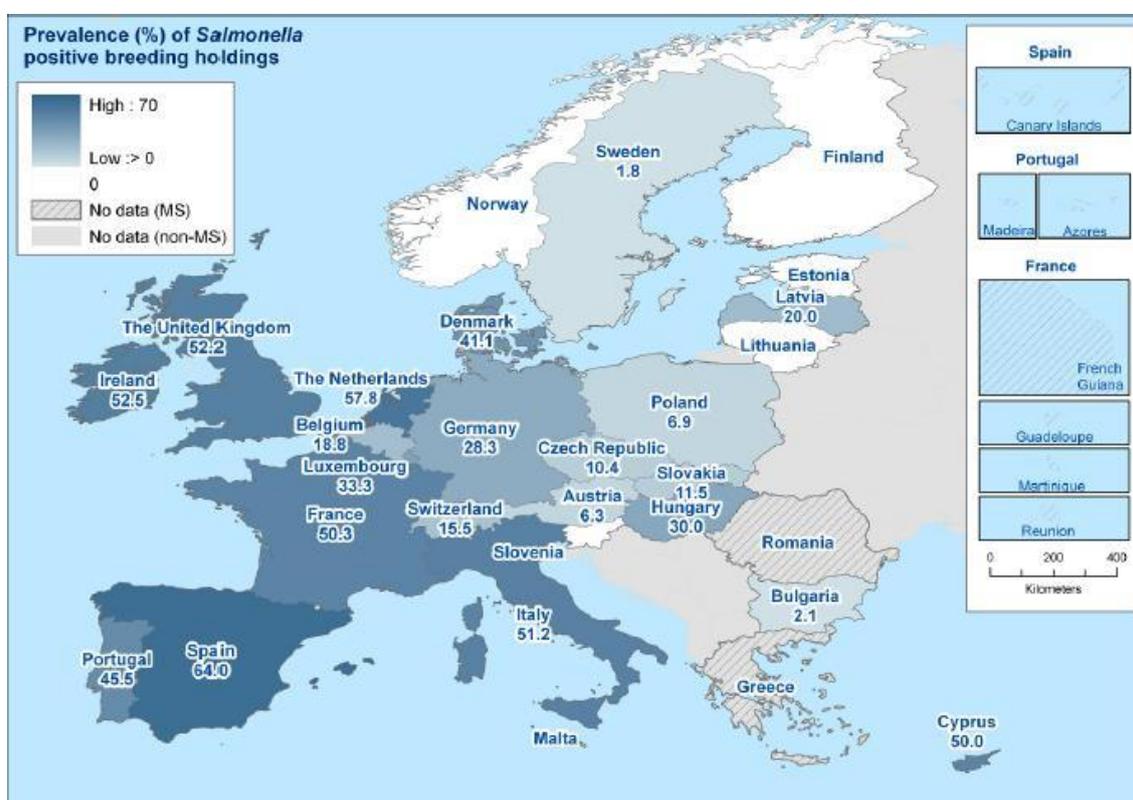


Figura 1.26: Prevalencia de explotaciones de abuelas positivas a *Salmonella*. Estudio de vigilancia de *Salmonella* de la UE, 2008 (EFSA, 2009).

En las explotaciones de madres, la prevalencia a nivel de la UE fue de 33,3%. La prevalencia más alta la tuvo Holanda (55,7%), aunque le siguió España muy de cerca (53,1%). En Bulgaria, Finlandia, Suecia y Noruega no se encontró ninguna explotación positiva (EFSA, 2009; Figura 1.27).

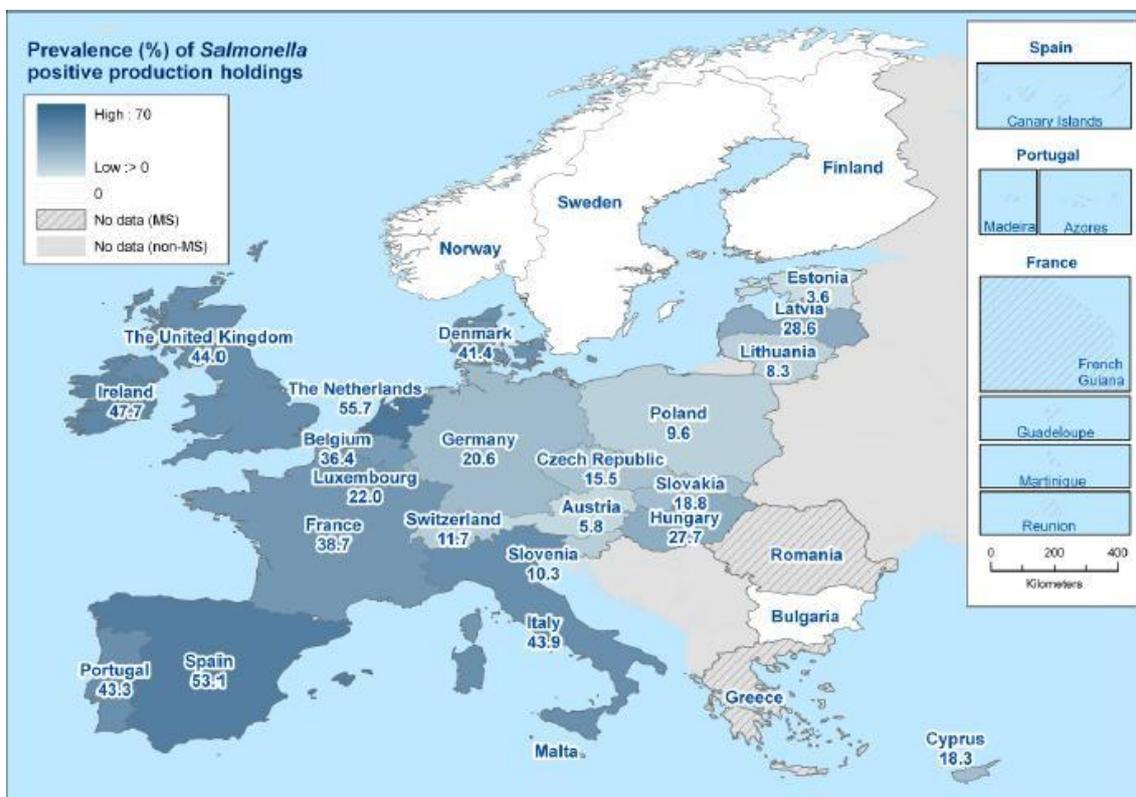


Figura 1.27: Prevalencia de explotaciones de producción de lechones (madres) positivas a *Salmonella*. Estudio de vigilancia de *Salmonella* de la UE, 2008 (EFSA, 2009).

La asociación entre la prevalencia de *Salmonella* en explotaciones de abuelas y de madres se muestra gráficamente a continuación. El diagrama de dispersión muestra que la prevalencia de explotaciones de madres positivas a *Salmonella* aumenta conforme aumenta la prevalencia de explotaciones de abuelas positivas a *Salmonella*, esto significa que hay una correlación positiva (EFSA, 2011; Figura 1.28).

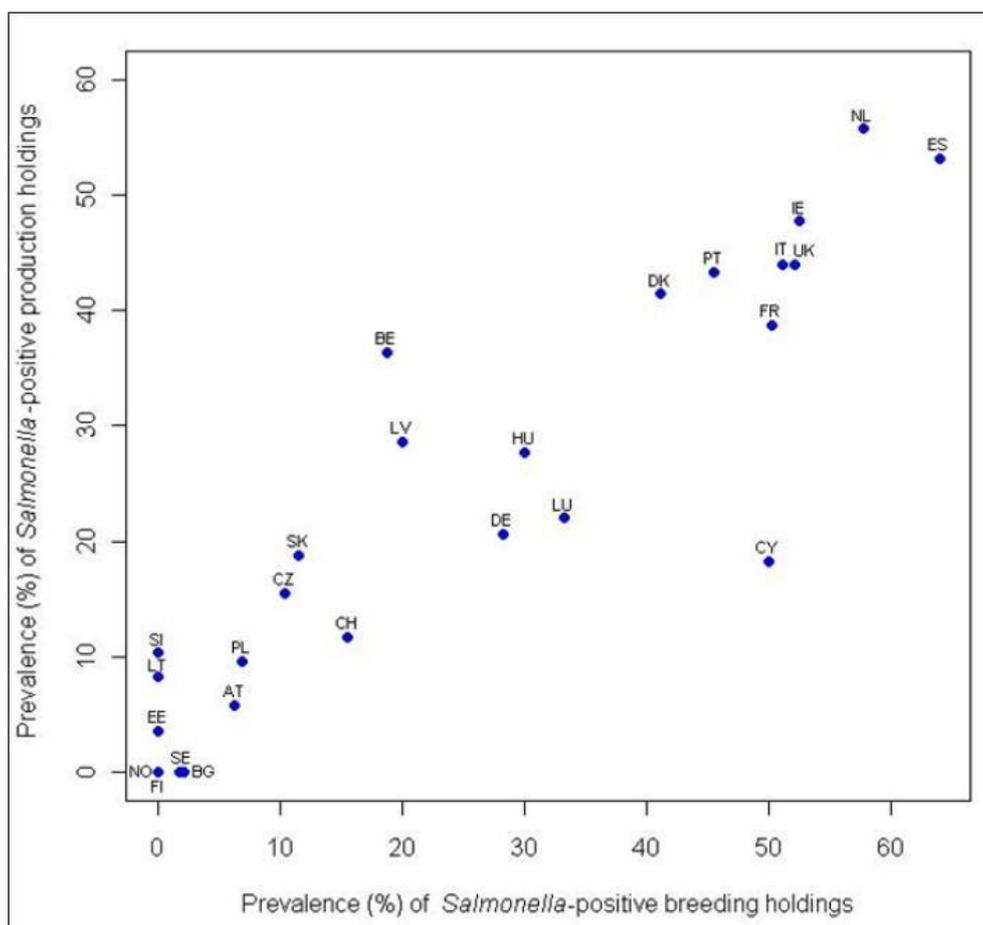


Figura 1.28: Correlación entre la prevalencia de explotaciones de abuelas positivas a *Salmonella* y la prevalencia de explotaciones de madre positivas a *Salmonella*. Estudio de vigilancia de la UE, 2008 (EFSA, 2011).

B) La salmonelosis porcina en España

A nivel nacional también se han realizado varios estudios con el objetivo de determinar la prevalencia de *Salmonella* en el cerdo.

En un estudio llevado a cabo en España entre 2003 y 2004, financiado por el antiguo Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, se obtuvo una prevalencia de explotaciones infectadas por *Salmonella* del 43,1% (37-49,1%). En dicho estudio, se muestrearon 232 explotaciones porcinas de cebo pertenecientes a 12 Comunidades Autónomas (CCAA). Su principal objetivo era obtener información sobre el estatus de la salmonelosis en las granjas porcinas españolas. Con el objetivo de evitar sesgos, el número total de explotaciones fue distribuido entre cada una de las CCAA y dentro de éstas, en cada una de las provincias de forma proporcional al censo de cerdos de cebo. En cada una de las granjas se recogieron muestras de heces en el suelo de 10 corrales diferentes y distribuidos en diferentes zonas de la explotación que alojaban cerdos próximos al sacrificio (>70-90 Kg). En cada corral se tomaron heces de cinco puntos hasta completar un mínimo de 25 g de heces. Se procesaron un total de 2.320 muestras de heces (García-Feliz *et al.*, 2007; Carvajal *et al.*, 2010).

Los mayores valores de prevalencia correspondieron a las CCAA con mayor censo y densidad de ganado porcino de cebo, con excepción de Castilla-La Mancha que alcanzó el valor más elevado de prevalencia de salmonelosis (60%), a pesar de ser una Comunidad con un censo de cebo relativamente bajo (7,5% del total nacional) y que se distribuye en un área muy extensa (densidad aproximada de 9,6 cerdos > 50Kg/Km²). En Cataluña, región a la que correspondía el mayor censo (24,7% del total nacional) y la mayor densidad de animales (73,6 cerdos > 50Kg/Km²), se aisló *Salmonella* en más del 50% de las granjas muestreadas, mientras que en Aragón, con censo y densidad muy similares, se obtuvo un dato de prevalencia de explotaciones infectadas del 46,6%. Un dato de prevalencia muy semejante se obtuvo en la región de Murcia (área con elevada densidad de ganado porcino) y en Andalucía. En un nivel intermedio se situaban Valencia y Extremadura, con un porcentaje de explotaciones positivas del 33,3% y el 36,4%, respectivamente. Ambas son CCAA con valores intermedios de censo y de densidad en porcino de cebo. Por último, el menor porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella* se detectó en las CCAA del noroeste, Galicia (25%) y Castilla y León (15,8%).

En lo que respecta a la distribución de los serotipos, cabe señalar que se identificaron 24 serotipos diferentes de 290 muestras positivas, siendo los más frecuentes: *S. Typhimurium* (31,4%), *S. Rissen* (23,8%) y *S. Derby* (16,2%; Figura 1.29).

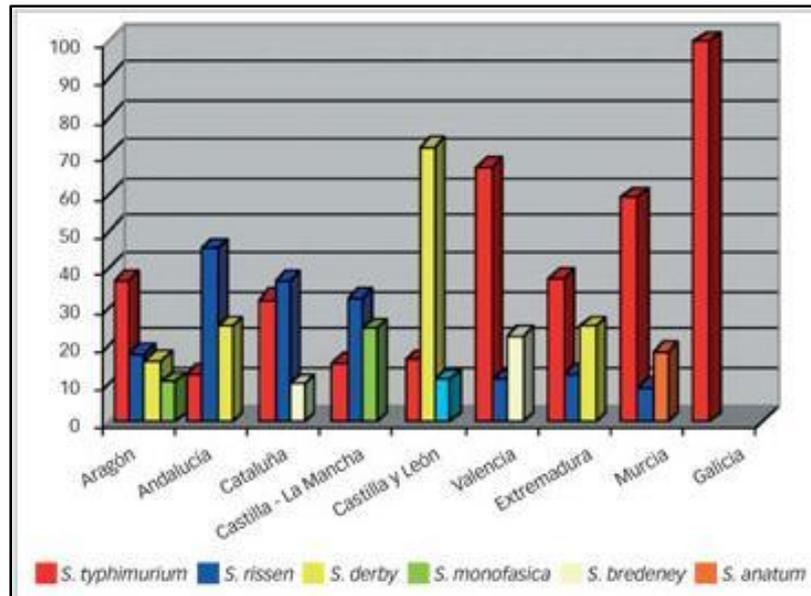


Figura 1.29: Distribución geográfica de los principales serotipos de *Salmonella* identificados en España, 2003-2004 (Carvajal *et al.*, 2010).

En Cataluña, se han realizado estudios de tipo bacteriológico y serológico. A nivel bacteriológico se obtuvo una prevalencia en explotaciones porcinas de cebo del 20,0% (Mejía *et al.*, 2006), mientras que a nivel serológico se obtuvieron unos porcentajes de seropositividad en granja para *Salmonella* del 97,7% y 77,3% en dos estudios realizados en explotaciones porcinas de cebo (Creus *et al.*, 2004b; Mejía *et al.*, 2006).

En Aragón, se realizó un estudio a nivel de explotación en el que se recogieron en el matadero nódulos mesentéricos de 25 canales de cerdos por cada una de las 80 explotaciones muestreadas. Se aisló *Salmonella* spp. en el 31,0% de los animales y el 94,0% de las explotaciones (Vico *et al.*, 2011). En otro estudio de tipo serológico realizado en la misma comunidad se obtuvo una seroprevalencia del 19,7% (Vico y Mainar-Jaime, 2012).

En Andalucía, se realizó un estudio a nivel de matadero en el que se recogieron muestras de ganglios linfáticos ileocecales y heces frescas. Se obtuvo una prevalencia de *Salmonella* del 33,1% de las explotaciones muestreadas (Astorga *et al.*, 2007).

En la Comunidad Valenciana no se han publicado datos oficiales ni estudios hasta la fecha sobre la prevalencia de *Salmonella* en el sector porcino (CAPA, 2013; comunicación personal).

1.3.2.3. Principales fuentes de contaminación de *Salmonella* en el sector porcino

Para poder llevar a cabo cualquier programa de control de salmonelosis en porcino, se deben conocer los diferentes factores que afectan tanto a la introducción como a la diseminación de la infección en una explotación, así como a su persistencia en la misma. Según la bibliografía, estos factores pueden estar relacionados con la higiene, la sanidad, la bioseguridad, la alimentación y el manejo. Conociendo estos factores de riesgo, se han propuesto varias medidas de intervención y control en las granjas. Sin embargo, se debe tener en cuenta que no existe una estrategia de control única que pueda aplicarse en todas las situaciones que se presenten, sino que ésta debe basarse en una combinación de medidas prácticas y económicamente factibles formuladas específicamente para cada granja (Lo Fo Wong *et al.*, 2004).

A) Limpieza y Desinfección

Entre las numerosas fuentes que contribuyen a la persistencia de la bacteria en las explotaciones porcinas, cabe destacar el papel que desempeña la incorrecta limpieza y desinfección de las instalaciones, factor al que dedicaremos un apartado posterior desarrollado con mayor profundidad.

B) Cerdos portadores asintomáticos

Las cerdas que proceden del exterior, aparentemente sanas, suponen una vía de entrada de *Salmonella* en la explotación. Berends *et al.* (1996) indicaban que la entrada de animales de reposición podía explicar entre un 1 y un 10% de las infecciones que se producen durante la fase de engorde.

Davies, P.R. *et al.* (2000a) añaden que los altos índices de reposición y las fuentes externas de reposición, así como si proceden de múltiples orígenes, pueden contribuir a una mayor introducción y/o mantenimiento de la infección por *Salmonella* en las explotaciones de reproductoras. En esta situación se pueden plantear dos escenarios:

- Inicio de una fase de excreción en los reemplazos, debido al estrés del transporte y a la introducción en un nuevo rebaño. Esto supone una fuente de contaminación para las cerdas propias del rebaño.
- Infección de las cerdas de reemplazo al entrar en contacto con las cerdas propias de la granja, debido a presentar una inmunidad específica menor que las cerdas del rebaño, y por tanto, mayor susceptibilidad a la infección.

Los riesgos que acarrea este problema traducidos en los elevados niveles de prevalencia descritos en general en las cerdas (Davies, P.R. *et al.*, 1998) y sobretodo,

en cerdas de reemplazo (Letellier *et al.*, 1999) se pueden solucionar con la aplicación de programas de evaluación de los proveedores de animales reproductores y utilizando adecuados sistemas de cuarentena y adaptación para las cerdas de reemplazo.

La transmisión vertical de la cerda a sus crías es también un factor muy importante. Algunos autores, como Funk *et al.* (2001a), han demostrado que los lechones pueden ser infectados desde muy temprana edad. Beloeil *et al.* (2003) sugieren un posible papel de la cerda en la contaminación del cerdo. La excreción de *Salmonella* en cerdas es frecuente en la fase de lactación, resultando en una posible exposición a los lechones que están amamantando. Funk *et al.* (2001a) demostraron que camadas relacionadas con una cerda excretora de *Salmonella* o nacidos en una jaula de maternidad contaminada tenían un mayor riesgo de tener al menos un cerdo positivo durante su vida, que camadas en las cuales las muestras procedentes de la cerda y de la jaula habían resultado negativas.

En el caso de los cebaderos, también se ha descrito una asociación clara entre la entrada en las granjas de engorde de animales procedentes de múltiples orígenes y una mayor seropositividad a *Salmonella* (Quessy *et al.*, 1999; Lo Fo Wong *et al.* 2004). Por tanto, resulta de gran importancia minimizar el número de orígenes.

C) Pienso

La alimentación juega un papel importante en la exposición de los cerdos a *Salmonella* en las granjas, pero también tiene un impacto sobre la fisiología individual del animal, contribuyendo de esta manera en el control de la transmisión de la infección. Tanto el pienso como las materias primas utilizadas para su producción son objeto de estudio para todos los autores que estudian factores de riesgo de infección por *Salmonella*.

Binter *et al.* (2011) presentaron en su estudio un modelo conceptual sobre la cadena del pienso de cerdo, describiendo la complejidad de la cadena así como las fuentes y rutas de transmisión de *Salmonella* a lo largo de la misma y en las plantas de procesado del pienso. Este modelo indicó que los ingredientes del pienso contaminados pueden jugar un papel importante en la transmisión e introducción de *Salmonella* en la cadena de pienso y en los molinos y las explotaciones de cerdos.

En una revisión realizada por Funk y Gebreyes (2004), éstos relativizan la importancia del pienso en la epidemiología de la infección por *Salmonella* en explotaciones porcinas. En su trabajo hacen referencia a un estudio llevado a cabo en varios países de la UE en el cual el 17,6% de las granjas habían resultado positivas en el

pienso, con un 6,9% positivo del total de las muestras. Estos resultados mostraban serotipos diferentes a los encontrados habitualmente en los cerdos.

Existen discrepancias en cuanto a la utilización de pienso granulado o en forma de harina. Parece ser recomendable, para reducir el riesgo de infección, el pienso granulado ya que se somete a elevadas temperaturas durante su elaboración, aunque debe ser tratado adecuadamente, especialmente durante el proceso de enfriamiento, para que todos los organismos sean destruidos (Funk y Gebreyes, 2004). El riesgo de recontaminación después del tratamiento térmico podría ser común a todos los procesos que consisten en el calentamiento y enfriamiento de grandes volúmenes de material a granel que incluye ingredientes ricos en proteínas mayoritariamente. Estrategias como la separación de zonas pre y post tratamiento térmico así como la rapidez en detectar y corregir problemas en las plantas de procesado pueden disminuir las diferencias en la prevalencia de *Salmonella* entre los productores de pienso tratado térmicamente así como de los piensos a base de soja (Binter *et al.*, 2011). De manera contradictoria, Hamilton *et al.* (2000), García-Feliz *et al.* (2009) y Wilkins *et al.* (2010) encontraron en su análisis de factores de riesgo que el uso de alimento granulado en los cerdos de engorde es un factor de riesgo que predispone al aumento de la prevalencia de *Salmonella*. El fundamento de esta relación no se conoce totalmente aunque se cree que radica en una modificación de la flora del sistema digestivo que puede beneficiar el desarrollo de bacterias gram negativas como *Salmonella* (Van Winsen *et al.*, 2002). Existen otras hipótesis en las que se tiene en cuenta el tamaño más pequeño de las partículas, el tratamiento térmico o la forma del granulado (Jorgensen *et al.*, 1999; Kjeldsen y Dahl, 1999; Doyle y Erickson, 2012). Rajic *et al.* (2007) también determinaron un aumento del riesgo de excretar *Salmonella* en granjas que utilizaban el pienso granulado comparado con aquellas que utilizaban pienso en forma de harina. Y Lo Fo Wong *et al.* (2001) descubrieron que la utilización de la alimentación en forma de harina podía ser considerada como factor de protección para la infección por *Salmonella* con respecto al pienso granulado. Sin embargo, en otro artículo, Lo Fo Wong *et al.* (2002) opinan que no existiría una diferencia significativa en granjas con la infección asentada.

El sistema de alimentación, en seco o húmedo, también ha sido estudiado y provoca importantes diferencias en la excreción de la bacteria. Beloeil *et al.* (2004a) encontraron mayor riesgo de excreción con alimentación seca. En un estudio comparativo realizado en Canadá (Farzan *et al.*, 2006), la seroprevalencia de *Salmonella* caía desde un 98% con alimento seco hasta un 84% con líquido. Los datos de aislamiento en heces pasaban de un 6% a un 0,8% de las muestras tomadas, que trasladados a positividad en granja suponía pasar del 38% al 15%. El efecto protector de la alimentación líquida para *Salmonella* podría ser como resultado del bajo pH, la presencia de ácido láctico y ácido acético producidos por la fermentación natural (Van Winsen *et al.*, 2002).

La adición de ácidos orgánicos en el pienso o en el agua de bebida mejora los resultados de infección (Lo Fo Wong *et al.*, 2002; Doyle y Erickson, 2012). También es eficaz la alimentación con piensos fermentados (Van Winsen *et al.*, 2000). Los ácidos orgánicos disminuyen el pH del alimento hasta valores próximos a 4 o menores en el caso de alimentos fermentados. Estos niveles de pH generan un entorno adecuado para la proliferación de las bacterias ácido lácticas, limitando la multiplicación de *Salmonella* (Van Winsen *et al.*, 2002). Creus (2006) ha demostrado, en nuestro país, que la inclusión de 0,4% de ácido láctico y 0,4% de ácido fórmico en la dieta reduce la seroprevalencia en relación con una dieta control. Todo parece indicar que el resultado depende de la dosis de ácidos y del nivel de infección (Zheng *et al.*, 2007).

D) Agua

Una fuente adecuada de agua limpia y fresca es importante en la producción porcina. El agua utilizada en la explotación puede estar contaminada en origen o puede contaminarse en la propia granja. Letellier *et al.* (1999) y Oliveira *et al.* (2002) describen el papel del agua en la diseminación de la infección por *Salmonella* en las explotaciones porcinas.

Es aconsejable tomar una serie de medidas como la cloración del agua, realizar pruebas de potabilidad y la protección de los depósitos del agua para prevenir la contaminación por pájaros, roedores y polvo (MAPA, 2005). Mejía *et al.* (2006) comprobó que las explotaciones que utilizan normalmente agua de pozo sin potabilizar es más probable que resulten contaminadas.

E) Manos y botas del granjero y visitas

Las visitas y los propios trabajadores pueden vehicular y favorecer la transmisión de *Salmonella spp.* dentro de las granjas, entre diferentes corrales, compartimentos y naves, a través de las botas, la ropa y los utensilios de trabajo. En diversos estudios se ha aislado *Salmonella* de las botas de los trabajadores (Letellier *et al.*, 1999; Rajic *et al.*, 2005).

Además, se ha comprobado que cuantas más visitas recibe una granja mayor es el riesgo de encontrar animales excretadores (Funk y Gebreyes, 2004). Cardinale *et al.* (2010) observaron que el riesgo de infección por *Salmonella* en el lote de cerdos disminuía cuando se limitaba el número de visitas procedentes de la fábrica de pienso, matadero y el personal veterinario (<1 visita al mes).

La bioseguridad relacionada con las prácticas llevadas a cabo por el personal de granja y las visitas, se ha asociado con una disminución del riesgo de infección de los

cerdos por *Salmonella spp.* (Funk y Gebreyes, 2004). El disponer de vestuarios provistos de lavabo, ducha y *wc*, y la incorporación de medidas de bioseguridad en la rutina diaria de trabajo, como el lavado frecuente de manos o el cambio de ropa y botas, se ha asociado significativamente a una menor prevalencia de *Salmonella spp.* en las granjas de cerdos (Fedorka-Cray *et al.*, 1997; Lo Fo Wong *et al.*, 2004; Farzan *et al.*, 2006). Aunque, también es cierto que los resultados a veces son contradictorios.

F) Vectores

Cuando viven en el entorno de la granja animales de compañía, roedores, animales silvestres (especialmente aves) y moscas, pueden introducir y transmitir la bacteria (Lo Fo Wong *et al.*, 2002), bien por contacto directo con los cerdos o, indirectamente, vía fecal a través del pienso o de los equipos de la granja (Zheng *et al.*, 2007). Cabe destacar:

- *Roedores*

Letellier *et al.* (1999) reconocen que los roedores pueden actuar como reservorios de *Salmonella spp.* En un estudio realizado en Estados Unidos, Barber *et al.* (2002) detectaron en granjas de cerdos infectados entre un 2% y un 10% de roedores excretores de *Salmonella spp.* Se han detectado recuentos de *Salmonella* superiores a 10^5 UFC en heces de roedores encontrados en los alrededores de granjas de aves (Henzler y Opitz, 1992). Farzan *et al.* (2006) no pudieron probar un aumento de *Salmonella* debido a la presencia de roedores pero continuaron con la creencia de la necesidad de realizar más estudios para determinar el papel de los roedores en la transmisión de la bacteria. Por el contrario, Hotes *et al.* (2010) obtuvieron en sus resultados que un aumento en el número de plagas estaba asociado con un descenso de *Salmonella*.

- *Insectos*

Las moscas, los escarabajos, e incluso algunos nematodos, pueden permanecer infectados de forma persistente, actuando como reservorios (Funk y Gebreyes, 2004). Cardinale *et al.* (2010) comprobaron que la presencia de grandes cantidades de cucarachas en las explotaciones (en ocasiones, más de cien) estaba asociado con un aumento en el riesgo de infección por *Salmonella*. Está demostrado que la bacteria es estable durante 10 meses en las cucarachas y durante años en sus heces, que pueden infectar a roedores, pollos y cerdos (Fathpour *et al.*, 2003).

- *Aves silvestres*

Las aves silvestres son un riesgo a considerar (Lo Fo Wong *et al.*, 2002). Barber *et al.* (2002) lo comprobaron en sus estudios de Estados Unidos, cuando aislaron

Salmonella spp. de un 8% de las heces de las aves presentes dentro de las instalaciones. Son varios los estudios que describen la asociación significativa entre la falta de barreras (redes, telas, etc.) para controlar la entrada de aves en las instalaciones y la seropositividad a *Salmonella*, como Mejía *et al.* (2006) y Creus *et al.* (2004a), que comprobaron un mayor riesgo en las explotaciones que carecían de tela pajarera en las ventanas. Del mismo modo, Cardinale *et al.* (2010) observaron que el riesgo de infección de *Salmonella* aumentaba cuando las instalaciones no estaban acondicionadas para evitar la entrada de aves silvestres.

- Animales de compañía

En cuanto al papel que juegan los animales de compañía (especialmente los gatos) respecto a la infección por *Salmonella spp.* no hay consenso. Nollet *et al.* (2004) no han encontrado un efecto de su presencia, ni de riesgo ni de protección. Hay autores que piensan que los gatos protegen frente a aves y roedores, hay otros que piensan que suponen un riesgo (Zheng *et al.*, 2007). Baptista *et al.* (2010a) comprobaron que la presencia de perros, gatos y otras especies domésticas era común en las explotaciones de cerdos estudiadas, sugiriendo que los ganaderos no son conscientes del riesgo potencial que suponen los animales como vectores biológicos de muchas enfermedades, incluida *Salmonella* (Funk *et al.*, 2001b; Barber *et al.*, 2002). Otros autores, como Funk y Gebreyes (2004) y Mejía *et al.* (2006) también consideran que la presencia de otras especies animales en las explotaciones de cerdos constituye un riesgo importante.

G) Otros factores

En la bibliografía aparecen descritos otros factores de riesgo a considerar como son el tipo de instalaciones, el tamaño del lote, el tipo de explotación, la densidad de animales, su origen, el uso de antibióticos, la presencia de otras enfermedades, la estacionalidad, etc.

En cuanto al tipo de instalaciones, existen varios estudios que consideran el suelo con *slat* total un factor de protección contra *Salmonella*. Las heces contaminadas de los cerdos discurren más rápidamente a la fosa de purines que en los otros tipos de suelo, disminuyendo el tiempo de contacto con los cerdos del corral (Nollet *et al.*, 2004; Hotes *et al.*, 2010). Respecto a la separación entre los corrales, Lo Fo Wong *et al.* (2004) no encontraron significativo las separaciones abiertas entre corrales aunque sí encontraron una asociación significativa entre el contacto nariz-nariz entre cerdos y la seropositividad (Wilkins *et al.*, 2010). Por el contrario, Hotes *et al.* (2010) no pudieron demostrar que los cerdos que eran capaces de entrar en contacto con los cerdos vecinos debido a las separaciones bajas o de barrotes tuvieran más probabilidades de resultar positivos a *Salmonella*.

Sin embargo, observaron un efecto protector en separaciones más abiertas. Rajic *et al.* (2007) no encontraron ninguna asociación significativa entre el tipo de separación (muro o barrotes) y/o el tipo de suelo (con o sin *slat*) con la presencia de *Salmonella* (García-Feliz *et al.*, 2009).

El impacto del tamaño de la explotación en la dinámica de *Salmonella* en las explotaciones porcinas ha sido investigado en varias ocasiones. Algunos estudios lo consideran un factor de riesgo, como Benschop *et al.* (2010) que obtuvieron en su modelo matemático que cuando se comparaba con explotaciones de tamaño mediano (producción de 2000-5000 cerdos para sacrificio al año) las explotaciones grandes (más de 5000 cerdos) y pequeñas (menos de 2000 cerdos) tenían un mayor riesgo de infección de *Salmonella*. Mejía *et al.* (2006) asociaron un tamaño mayor de la explotación con una prevalencia más elevada (García-Feliz *et al.*, 2009). Baggesen *et al.* (1996), en cambio, obtuvieron que la prevalencia de infección de *Salmonella* era menor en explotaciones pequeñas (14,7%) que en explotaciones grandes (23,1%) en un estudio llevado a cabo en Dinamarca. Sin embargo, otros investigadores no encuentran asociación entre el tamaño de la explotación y *Salmonella* (Lo Fo Wong *et al.*, 2004). La variación en los hallazgos puede ser explicada por el hecho de que el tamaño de la explotación es un factor de riesgo complejo *per se* e incluye otros factores relacionados: el número de lotes, naves por lotes, corrales por naves, el número de cerdos por lote y cerdos por corral o la densidad a nivel de lote, nave o corral (García-Feliz *et al.*, 2009; Farzan *et al.*, 2010).

El tratamiento preventivo con antibióticos durante el periodo de engorde se ha descrito que aumenta el riesgo de excreción de *Salmonella* (Rossel *et al.*, 2006). Del mismo modo que Van der Wolf *et al.* (2001a), Hotes *et al.* (2010) obtuvieron en su estudio que la administración de antibióticos estaba asociada con un resultado positivo. Este efecto puede ser explicado por la alteración de la microbiota endógena que disminuye la resistencia a la colonización, es decir, se reduce la dosis mínima necesaria para la infección o colonización (Beloeil *et al.*, 2007).

En el ámbito de la salud animal, es importante incidir en el control sanitario de los animales, sobretodo en la prevención de patologías de cuadro entérico. La excreción en heces de *Salmonella* resulta muy elevada en animales que padecen un cuadro entérico de salmonelosis o en otros casos de diarrea (van der Wolf *et al.*, 2001a; Mejía *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2005; Quessy *et al.*, 2005). Además, se piensa que la presencia de otros patógenos digestivos predispone a un desequilibrio en la microbiota intestinal de los animales (Beloeil *et al.*, 1999). En otros estudios, se ha descrito que enfermedades recurrentes, especialmente enfermedades respiratorias y debilitadoras como el Síndrome Respiratorio y

Reproductivo Porcino (PRRS) y el Síndrome Postdestete Multisistémico, pueden interactuar con *Salmonella*, posiblemente al debilitar el sistema inmune o aumentar la transmisión al estornudar o al diseminar grandes cantidades de *Salmonella* y durante un largo periodo de tiempo (Beloeil *et al.* 2007, Smith *et al.*, 2010).

Smith *et al.* (2010) encontraron significativos los ciclos anuales y estacionales, con una prevalencia de *Salmonella* más alta en otoño y más baja en primavera. Esto coincide con estudios anteriores como el de Funk *et al.* (2001b).

1.3.2.4. Distribución y dinámica de excreción de *Salmonella* en la piara

Considerando como unidad de análisis al cerdo individual, Stärk *et al.* (2002) elaboraron una clasificación en cuanto al estado de infección y contaminación de los cerdos. De acuerdo con esta clasificación, un cerdo puede estar en alguno de los seis estados siguientes:

- Libre: cuando el animal no es portador de la bacteria ni en el interior de su organismo ni en su superficie.
- Libre con contaminación: cuando el animal carece de *Salmonella spp.* en el interior de su organismo pero sí está presente en la piel del animal vivo o en su canal, una vez sacrificado.
- Excretando: forma de infección en la cual la bacteria está presente en el contenido intestinal del animal y la está liberando al ambiente.
- Excretando con contaminación: cuando el animal está liberando la bacteria al ambiente y, a la vez, está presente en la superficie de su piel.
- No excretor: forma de infección en la cual *Salmonella* está presente en ciertos órganos, pero no en el contenido digestivo. Los animales, en este estado, no excretan la bacteria en el ambiente y son conocidos, normalmente, como “portadores”.
- No excretor con contaminación: Además de la forma de infección del estado anterior, los animales presentan la bacteria en la superficie de su cuerpo.

A nivel de explotación, se puede observar una variación en la distribución de la prevalencia de *Salmonella* en función de la edad de los animales. Aunque suele ser superior la prevalencia bacteriológica de *Salmonella* en los cerdos de engorde que en las reproductoras (Funk *et al.*, 2001a; Kranker *et al.* 2003), algunos estudios describen

una prevalencia individual elevada en estas últimas (Davies, P.R. *et al.*, 1998; Letellier *et al.*, 1999; Mejía *et al.*, 2006).

En el 2005a, Nollet *et al.* publicaron un estudio sobre la evolución de la excreción de *Salmonella spp.* en tres explotaciones de cerdas reproductoras a lo largo del tiempo. En este estudio comprobaron que, salvo en el momento del destete, la prevalencia de *Salmonella spp.* excretada era menor del 10%. En el momento del destete se observaba un pico en dos de las granjas, las cuales pasaban del 5% al 58% de cerdas excretoras y del 3,1% al 34%. Después de ese momento volvían de nuevo a unos valores del 10% o menores.

Estos datos coinciden, en parte, con los obtenidos por Funk *et al.* (2001a), cuando tomaron muestras de heces en dos pirámides de producción en fases. En las dos explotaciones de reproductoras aislaron *Salmonella* en el periodo de antes del destete, aunque no alcanzaba el 10% de cerdas excretoras. En el 28% de las ocasiones aislaron la bacteria de las muestras recogidas del suelo de las salas de parto. En la gestación, los resultados variaban según la cohorte de cerdas, situándose entre el 15 y el 36%. Sin embargo, Kranker *et al.* (2003) no encontraron cerdas excretoras antes del destete en el grupo de cerdas sometido a control en granjas de ciclo cerrado.

La presencia de *Salmonella* en las explotaciones de fase I resulta de gran importancia por el papel que pueden desempeñar en la transmisión de la infección a su descendencia, y en consecuencia, a los cerdos de engorde (Kranker *et al.*, 2001; Lurette *et al.*, 2007). Parece claro que sí existe un riesgo de transmisión de la bacteria de las cerdas a los lechones, a pesar de que la prevalencia suele ser baja en los lechones, como hemos visto anteriormente. Según Funk *et al.* (2000), estos valores podrían estar subestimados debido a que la técnica de muestreo utilizada, basada en el uso de hisopos rectales, se caracteriza por tener menor sensibilidad en comparación con la recogida de una mayor cantidad de heces. Por otro lado, existen estudios que sostienen la hipótesis de que la transmisión de las madres a su descendencia es relativamente poco importante (Davies, P.R. *et al.*, 1999; Merialdi *et al.*, 2008). Por un lado, es posible prevenir la infección de los lechones que provienen de explotaciones de fase I con problemas de *Salmonella* mediante su traslado a ambientes más limpios nada más ser destetados (Fedorka-Cray *et al.*, 1997; Nietfeld *et al.*, 1998) o incluso con 10 semanas de edad (Dahl *et al.*, 1997). Por otro lado, en algunas ocasiones los serotipos encontrados en los lechones no coinciden con los aislados en las reproductoras (Funk y Gebreyes, 2004). Sin embargo, Nollet *et al.* (2005b) describen una similitud entre el perfil genético de los serotipos aislados en explotaciones de fase I y los serotipos encontrados en los cerdos durante la transición y el engorde, aunque no fueron capaces de demostrar la transmisión directa de las cerdas reproductoras a su descendencia. En un estudio publicado por Berends *et al.* en 1996, las infecciones por *Salmonella* procedentes de las explotaciones de reproductoras sólo representarían entre el 1 y 10% del total de infecciones ocurridas durante la fase de engorde.

Los lechones analizados en la producción en fases por Funk *et al.* (2001a) ya eran excretadores antes del destete. En la transición analizaron animales procedentes de cinco cohortes de cerdas, entre 7 y 10 días después de su llegada y entre 7 y 10 días antes de su salida, obteniendo aislamientos de *Salmonella* que se situaban por debajo del 1% en el primer muestreo. En el segundo muestreo se mantenía el nivel, salvo en una explotación en la que se llegaba al 47% y en otra, al 2,8%. Durante la fase de engorde también se recogieron muestras en tres momentos (2 y 9 semanas tras la llegada a la explotación y 1 mes antes de la salida) de estos mismos cerdos. El patrón de aislamiento variaba mucho según la cohorte. En el estudio llevado a cabo por Kranker *et al.* (2003), se observó un aumento en la excreción de *Salmonella* en los lechones, debido notablemente al cambio de alimentación y al descenso de los anticuerpos en el calostro de la cerda (Funk *et al.*, 2001a; Nollet *et al.*, 2005b).

Una vez desaparecen los anticuerpos maternos, normalmente a las 7-8 semanas de edad, se produce la seroconversión de los cerdos durante el engorde, sobretodo en el último tercio del periodo (Berends *et al.*, 1996; Proux *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2003). En un estudio llevado a cabo en un granja de ciclo cerrado (Beloeil *et al.*, 2003) se observaron diferentes momentos de excreción a lo largo del ciclo productivo. Durante el parto y la lactación, el 32% de las cerdas analizadas excretaron *Salmonella*. Durante el periodo de amamantamiento, tres lechones de camadas diferentes excretaron la bacteria en la segunda semana de vida. Tras el destete, estos mismos lechones volvieron a excretar. Los lechones excretadores estaban en el mismo corral post-destete, el cual presentaba contaminación ambiental. Durante la fase de engorde, trece cerdos excretaron *Salmonella* Typhimurium. La mayor parte de la excreción se producía durante la primera mitad del engorde, especialmente durante las siete primeras semanas, mientras que durante el resto del engorde se producía la seroconversión. En total, el 11,6% de los cerdos muestreados durante esta fase excretaron la bacteria, posiblemente por el contacto con nuevas fuentes de infección. Sin embargo, en el matadero, el 40% de los cerdos dieron positivo en el contenido cecal y el 25% en el nódulo linfático ileocecal. Estos hechos, junto con la variación en el perfil de los serotipos circulantes entre las fases de transición y engorde y durante la misma fase de engorde (Davies, P.R. *et al.*, 1999), indicarían probablemente que esta etapa es crítica para la presencia de *Salmonella* en los animales destinados al matadero.

Además de la edad de los animales, la variación en la susceptibilidad individual podría explicar también las diferencias en los niveles de infección entre lotes. Kranker *et al.* (2003) observaron un aumento de los aislamientos desde el 0% al 30% entre los 30 y los 60 días de vida de cerdos procedentes de una granja de ciclo cerrado, a continuación descendía el porcentaje. Sin embargo, al presentar los resultados individuales de cada una de las cohortes estudiadas dentro de la misma granja, éstos

eran muy variables: aunque los picos de excreción se solían producir al principio, había un caso en el que no se producía y otro en el que se producía al final.

Bahnon *et al.* (2006) comprobaron la importancia del estado de portador. El estudio contaba con 62 explotaciones, de las cuales se muestreaban 15 cerdos en cada una. Mientras que se encontraban sólo un 5% de cerdos positivos en heces en la granja, en el matadero las cifras variaban con un 4% de positivos en el contenido del colon distal, 17% en el contenido cecal y 15% en los ganglios ileocecales. En un estudio realizado por Pires *et al.* (2013) demostraron que la excreción intermitente de *Salmonella* se encontraba en más del 50% de los cerdos que resultaban positivos en más de un muestreo. Este hecho tiene especialmente relevancia en el diseño de estudios de investigación y vigilancia para la determinación del estatus de *Salmonella*.

En la excreción de *Salmonella* por parte de los portadores, juegan un papel muy importante tanto la alimentación (Creus, 2006) como el estrés (Lo Fo Wong *et al.*, 2002). Numerosos estudios han demostrado un aumento en la prevalencia de *Salmonella* desde la granja al matadero (Craven y Hurst, 1982; Mulder, 1995; Hurd *et al.*, 2001:2003; Fosse *et al.*, 2008). El estrés durante el transporte puede provocar un aumento de excreción de la bacteria en cerdos portadores no aparentes y por tanto, la contaminación del camión y la interinfección de los cerdos durante la espera en el matadero (Fravalo *et al.*, 1999). Berends *et al.* (1996) también comprobaron que el estrés durante el transporte era un importante factor de riesgo de infección por *Salmonella spp.*

Rostagno *et al.* (2003) comprobaron, tras un estudio realizado en dos grandes mataderos, que los corrales de espera antes del sacrificio estaban altamente contaminados con *Salmonella*. Además, concluyeron que el ambiente contaminado de dichos corrales podía ser una fuente de infección significativa de la bacteria antes del sacrificio de los cerdos ya que ha sido descrita la rápida infección de éstos de entre 2 a 3 horas después del contacto con *Salmonella* (Hurd *et al.*, 2001; Arguello *et al.*, 2013). Hernández *et al.* (2013) observaron en un estudio realizado recientemente que el 23,21% de las muestras procedentes del camión y el 14,06% de las muestras tomadas en las salas de espera del matadero resultaron positivas a *Salmonella*. Con estos datos sugirieron la necesidad de intensificar la limpieza y desinfección en los procesos previos al sacrificio, como son el camión y las salas de espera, además de otras medidas para reducir o eliminar el riesgo de infección o recontaminación por *Salmonella spp.*

En los últimos años, se están realizando numerosos estudios con el objetivo de identificar los factores de riesgo de *Salmonella* en los mataderos tras el sacrificio de los cerdos, puesto que es de suma importancia reducir la contaminación de las canales (Delhalle *et al.*, 2008; Algino *et al.*, 2009; Letellier *et al.*, 2009; Baptista *et al.*, 2010b; Smid *et al.*, 2013). No obstante, establecer unas buenas medidas de control en la

última fase de engorde tendrá un mayor impacto en la reducción del riesgo de contaminación de las canales con *Salmonella* en el matadero. Por este motivo, se requieren estudios longitudinales para definir la compleja epidemiología de la infección de *Salmonella* en las explotaciones porcinas, y determinar las intervenciones apropiadas para reducir el riesgo de transmisión de la bacteria (Davies, R.H. *et al.*, 1999; Arguello *et al.*, 2013).

1.3.2.5. Persistencia de *Salmonella* en la producción porcina

Una gran cantidad de trabajos de investigación han demostrado una elevada persistencia de la bacteria en la nave tras la limpieza y desinfección. Davies, R.H. y Wray (1997) encontraron niveles altos de *Salmonella* en corrales de cerdos tras la limpieza y desinfección. Gebreyes *et al.* (1999) detectaron *Salmonella* en el suelo de los corrales del 82% de los cebaderos estudiados tras su limpieza y desinfección. Funk *et al.* (2001a) encontraron frecuentemente contaminación ambiental con *Salmonella* a pesar de la limpieza y desinfección. Beloeil *et al.* (2003) encontraron en una granja de ciclo cerrado que, después de la limpieza y desinfección de las naves, permanecían positivas el 27% de las maternidades, el 9% de los destetes y el 13% de los corrales de las naves de engorde. Rajic *et al.* (2005) comprobaron que el 11,6% de las instalaciones vacías y limpias estaban contaminadas.

Se conoce muy poco sobre la eficacia de los métodos de limpieza y desinfección utilizados en la limpieza y desinfección de las explotaciones de cerdos comerciales a nivel mundial (Mannion *et al.*, 2007). Existen varias hipótesis relacionadas con la alta persistencia de *Salmonella* tras la limpieza y desinfección (Funk y Gebreyes, 2004; Lo Fo Wong *et al.*, 2004; Fosse *et al.*, 2009; Baptista *et al.*, 2010a) como la falta de material científico publicado sobre la desinfección en el sector agrícola (Baptista *et al.*, 2010a) o la ausencia de métodos oficiales para probar la eficacia de los desinfectantes (Lasa, 2004). Otras posibles causas podrían ser la utilización del agua de limpieza con una dureza y temperatura incorrectas (Leriche y Carpentier, 1995; Taylor y Holah, 1996), la ausencia de detergente durante el proceso de limpieza y desinfección, que puede reducir significativamente la eficacia de la desinfección (Baptista *et al.*, 2010a) o la contaminación residual de las naves tras la limpieza y desinfección (Funk *et al.*, 2001b; Baptista *et al.*, 2010a).

En cualquier caso, está claro que los procedimientos de limpieza son claves para la eliminación de la materia orgánica adherida al suelo y paredes de las naves, especialmente cuando son de un material rugoso como el cemento. Se ha demostrado la supervivencia de *S. Typhimurium* en suelo hasta 96 días a 8°C y hasta 54 días a 20°C, por lo que es recomendable un proceso intenso de limpieza (Amass y Clark, 1999).

Beloil *et al.* (2004a) comprobaron que la presencia de restos de heces, en el suelo y en las paredes de los parques, suponía un riesgo para los cerdos recién incorporados.

Mannion *et al.* (2007) realizaron un estudio sobre la eficacia de la limpieza y desinfección en granjas de cerdos. Los resultados de su estudio indicaron que existe un problema particular en la limpieza de los comederos y bebederos. Esto puede ser atribuido parcialmente a las dificultades que se tiene para acceder a ellos y sus alrededores. Según este estudio, otra posible causa podría ser que la presión del agua al limpiar el suelo de *slat* salpicara el material fecal contaminado a los comederos, resultando en mayores niveles de contaminación tras la limpieza. La importancia de la correcta limpieza de los comederos y bebederos entre diferentes lotes de cerdos se enfatiza tras los descubrimientos de Rho *et al.* (2001). En su estudio detectaron *Salmonella* en agua de los bebederos y en pienso de las tolvas, a pesar de que el agua de los depósitos y el pienso de los silos resultaran negativos. Los cerdos podían haber sido un reservorio de la infección, contaminando directamente los bebederos y las tolvas.

La desinfección de las instalaciones es necesaria para evitar la contaminación de los cerdos libres que entran en la explotación, actuando como un factor de protección (Zheng *et al.*, 2007; Cardinale *et al.*, 2010). El uso correcto de detergentes y desinfectantes parece influenciar fuertemente en la fiabilidad de los procedimientos de limpieza y desinfección (Gibson *et al.*, 1999; Van der Wolf *et al.*, 2001a). Por tanto, la utilización de desinfectantes después de la limpieza, como el formaldehído, puede ser de gran ayuda; pero es necesario recalcar que aunque se utilicen desinfectantes, éstos disminuyen pero no eliminan la contaminación por *Salmonella* en las naves (Funk y Gebreyes, 2004). Es importante tenerlo en cuenta, puesto que la presencia de materia orgánica puede disminuir el efecto del desinfectante.

La mayoría de autores que han trabajado previamente en factores de riesgo señalan la importancia de una correcta limpieza y desinfección de las naves entre lotes, para evitar la infección de los lotes sucesivos por *Salmonella*. Los resultados obtenidos por Lurette *et al.* (2007) sugirieron que la implantación de unas estrictas medidas de higiene podían mantener de manera eficiente la prevalencia de infección de *Salmonella* en un nivel bajo.

Además, se debe tener en cuenta que a pesar de ser menos importante que el modo de transmisión por ingestión, *Salmonella* puede diseminarse por aire a través de aerosoles y polvo. El polvo acumulado en el ambiente, equipos de climatización y distribución de pienso y agua es considerado como un factor de riesgo a tener en cuenta (Lo Fo Wong *et al.*, 2002). Rajic *et al.* (2005) detectaron *Salmonella* en el 5,6% de las muestras recogidas en granjas de engorde. Por ese motivo es importante evitar la acumulación de suciedad en corrales, equipos y utensilios y asegurar el correcto

mantenimiento de los sistemas de ventilación de las naves, así como llevar a cabo una buena limpieza y desinfección entre diferentes lotes de cerdos.

El papel de las plagas en la persistencia de *Salmonella* en las naves de engorde también ha sido descrito en varios estudios (Funk y Gebreyes, 2004; Baptista *et al.*, 2010a; Cardinale *et al.*, 2010). Los roedores presentes en la explotación comprometen la eficacia del proceso de limpieza y desinfección. Rose *et al.* (2000) concluyeron que aunque se eliminara la bacteria de las naves con la limpieza y desinfección estos vectores las volverían a contaminar.

Lo Fo Wong *et al.* (1999:2002) describen el beneficio del sistema todo dentro-todo fuera en el control de la infección por *Salmonella spp.* Este sistema ayuda a prevenir la contaminación entre lotes y actúa a modo de barrera, impidiendo la formación de un ciclo endémico de la infección o repetidas infecciones desde el ambiente. Creus *et al.*, (2004ab) también observan mayores porcentajes de seropositividad en cerdos alojados en sistemas de producción en continuo que en cerdos manejados todo dentro-todo fuera. Cardinale *et al.* (2010) observaron que el riesgo de infección de *Salmonella* disminuía cuando se respetaba el sistema todo dentro-todo fuera en las naves. Sin embargo, Rajic *et al.* (2007) no encontraron diferencias en la presencia de *Salmonella* entre granjas que utilizaban el sistema de producción continuo en varias etapas de la producción y granjas que utilizaban el sistema todo dentro-todo fuera. Asimismo, Beloeil *et al.* (2004a) describen que periodos de vacío sanitario (vaciado y limpieza) menores de tres días entre lotes de animales en los cebaderos incrementan el riesgo de contaminación de los cerdos.

Se ha demostrado que la producción de celulosa y la formación de *biofilm* podría jugar un papel importante en la supervivencia de *Salmonella* en el ambiente; de hecho, cepas de *Salmonella* deficientes en celulosa no desarrollaron *biofilm* en un experimento llevado a cabo por Latasa *et al.* en 2005. Los *biofilm* se definen como comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos y adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo (Costerton *et al.*, 1995). En los últimos años, han sido estudiados por muchos autores los mecanismos que tiene la bacteria para desarrollar *biofilm* (Bonafonte *et al.*, 2000; Cucarella *et al.*, 2001; Solano *et al.*, 2002; García *et al.*, 2004; Latasa *et al.*, 2006). Lasa (2004) observó que vivir en el estado de *biofilm* protege a la bacteria frente a agentes dañinos del ambiente como desinfectantes químicos, que generalmente son incapaces de eliminar la mayoría de bacterias en estado de *biofilm*. Dichos autores también observaron que los microorganismos que viven en un estado de *biofilm* son 1.000 veces más resistentes que microorganismos que viven en suspensión. Holah *et al.*, (1990) demostró que la mayoría de desinfectantes efectivos contra células bacterianas en suspensión no resultaban ser tan efectivos cuando se trataban células bacterianas envueltas en un *Biofilm*. Ramesh *et al.* (2002) probó 13 desinfectantes comerciales

contra *biofilms* de *Salmonella* localizados sobre superficies metálicas como contenedores para el transporte. Dicho estudio sugirió que el uso de un compuesto de hipoclorito (0,05%) y peróxido alcalino (1,0%) aplicado bajo una determinada manera podía resultar en una eliminación efectiva de *Salmonella* en el estado de *biofilm*. Sin embargo, este estudio fue realizado *in vitro* y no se probó posteriormente bajo condiciones de campo.

1.4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Durante los últimos años, se han dado varios incidentes relacionados con la seguridad alimentaria como la influenza, la encefalopatía espongiforme bovina, las dioxinas, etc. Todos estos sucesos han creado una intensa alarma social que ha llevado a los consumidores a demandar una mayor transparencia, trazabilidad y seguridad en toda la cadena de producción de alimentos. De esta manera, la protección de la salud pública se ha convertido en una cuestión prioritaria en la política europea, lo que ha obligado a la industria alimentaria y, en consecuencia, al sector primario a aumentar las medidas de control sanitario de sus productos.

Las toxiinfecciones alimentarias constituyen un verdadero problema de salud pública en los países desarrollados. *Salmonella*, junto con *Campylobacter*, son los agentes zoonóticos aislados con mayor frecuencia en casos de gastroenteritis de origen alimentario tanto en Europa como en Estados Unidos (CDC, 2012; EFSA, 2013). La mayor parte de infecciones causadas por *Campylobacter* corresponden a casos esporádicos y no suelen producir brotes comunitarios, en cambio *Salmonella* es descrita como la causa mayoritaria de los brotes declarados de toxiinfecciones alimentarias. Según la EFSA (2013), en el año 2011 se registraron un total de 5.648 brotes alimentarios en la UE, con un total de 69.553 casos en humana. Esto representa un aumento del 7,1% respecto al año anterior, cuando fueron registrados 5.276 brotes. España, Polonia y Francia contaron con el 53,6% del número total de brotes de fuerte evidencia (701), del mismo modo que en el 2010. En España, se registraron 424 brotes alimentarios en el 2011 (5.877 casos), de los que 165 fueron de fuerte evidencia, dando lugar a un total de 1.930 casos. Sin embargo, esta cifra no refleja el número real de casos de salmonelosis, se calcula que los casos en los que se dispone de aislamiento sólo representan el 25% de los casos totales declarados en el estado español. En la Comunidad Valenciana, no hay datos oficiales sobre los casos de salmonelosis.

Por otro lado, el cerdo ha contribuido de una manera notable en la producción global de carne a lo largo de la historia y, por tanto, en la economía mundial. En el año 2011, según datos de la FAO (2014), la producción de carne de cerdo supuso un 36,9% de la producción total de carne a nivel mundial. El sector porcino permanece a la

cabeza desde hace más de una década y no parece que esta situación vaya a verse alterada en los próximos años, puesto que su inmediato perseguidor es el sector avícola cuya producción de carne de pollo está en el 30,1%, estando lejos de alcanzar al sector líder en producción de carne.

La producción porcina es una de las actividades ganaderas más importantes en España. La diferencia de producción es aún más acusada que a nivel mundial, suponiendo la carne de cerdo el 61,6% de la producción total de carnes de nuestro país, seguido por el 24,2% de la producción de pollo (ANICE, 2014). La carne de cerdo es la mayor consumida en España, con un consumo de 10,4 Kg *per cápita* de carne fresca y 12,1 Kg *per cápita* de carnes transformadas. La Comunidad Valenciana es la séptima productora de cerdo en España, con un 3,3% de la producción total de carne de cerdo en 2012. En esta misma región se censaron durante el mismo año 1.198 explotaciones porcinas con un censo de 1.197.959 cabezas de cerdos (4,0% del censo nacional; MAGRAMA, 2013).

Por tanto, el sector porcino es un sector importante de producción en España y el establecimiento de programas de control para *Salmonella* podría evitar importantes pérdidas económicas en el futuro. De forma previa a la publicación de la prevalencia de *Salmonella* en cerdos de cebo (EFSA, 2008) y al establecimiento de los objetivos comunitarios para el control de *Salmonella* en explotaciones porcinas, se han realizado estudios para estimar la situación de *Salmonella* en la producción porcina de España. En este sentido, la Concejalía de Agricultura, Pesca y Alimentación financió un proyecto de investigación para el estudio de las principales fuentes de contaminación de *Salmonella* en las explotaciones porcinas de la Comunidad Valenciana y el estudio de la epidemiología de *Salmonella* en condiciones de campo. Dichos estudios fueron planificados para anticipar el Programa Nacional de Control de *Salmonella* en la producción porcina, con el objetivo de aplicar medidas adecuadas en línea con los futuros objetivos comunitarios.

2. OBJETIVOS

Tras realizar una revisión bibliográfica sobre el tema, en este estudio se plantearon seis objetivos fundamentales:

- 1) Evaluar la limpieza y desinfección en explotaciones porcinas de engorde de la Comunidad Valenciana frente a *Salmonella*.
- 2) Describir las características más importantes de las explotaciones estudiadas así como su posible relación con el estatus de contaminación de *Salmonella* de las heces de los cerdos y de la explotación al final del periodo de engorde.
- 3) Determinar las principales fuentes de contaminación por *Salmonella* en los lotes de cerdos, así como los principales serotipos implicados en la producción porcina de la Comunidad Valenciana.
- 4) Determinar los principales factores de riesgo para la contaminación del lote de cerdos por *Salmonella* al final de ciclo productivo.
- 5) Estudiar la dinámica de excreción de *Salmonella* en heces de los cerdos a lo largo del periodo de engorde y tras su transporte al matadero.
- 6) Evaluar la capacidad de desarrollo de *biofilm* por parte de las cepas aisladas a partir de las muestras tomadas en las explotaciones porcinas de engorde de la Comunidad Valenciana.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. DISEÑO EPIDEMIOLÓGICO

3.1.1. Diseño del estudio

Las investigaciones se pueden clasificar según diferentes ejes: propósito, diseño, temporalidad, etc. En concreto, la investigación empírica se puede subdividir, según su finalidad, en tres tipos básicos: descriptiva, explicativa y predictiva o inferencial (Silva y Barroso, 2004).

1. Investigación descriptiva: Es la encargada de la caracterización de una población. En epidemiología, el estudio de corte o transversal constituye un ejemplo típico en el que una población o muestra poblacional se examina para conocer sus rasgos básicos.
2. Investigación explicativa: Es la valoración de hipótesis que explican los determinantes de un proceso o la ocurrencia de un fenómeno.

En epidemiología, lo más frecuente es que sean estudios observacionales:

- *Estudios prospectivos*: Tenemos los estudios de cohorte, que involucra el registro de la ocurrencia de cierto desenlace (enfermar, por ejemplo) dentro de una o más cohortes. Se entiende como *cohorte* cualquier grupo de individuos observado a lo largo de un periodo dado (Rothman, 2002). Tras la revisión bibliográfica, se observó que en los estudios epidemiológicos sobre contaminación de *Salmonella* estos estudios prospectivos se basan en la toma de muestras en varias ocasiones a lo largo del tiempo, siguiendo el ritmo de producción del lote. En algunos de ellos también se realizan encuestas epidemiológicas con el objetivo de registrar datos de interés. Las conclusiones de estos estudios, debido al escaso tamaño muestral o al criterio seguido para establecerlo, no pueden extrapolarse a la población total. Pueden ser de dos tipos: estudio de monitorización o estudio sobre la limpieza y desinfección de las instalaciones.

En los *estudios de monitorización* se toman muestras en los lotes (contaminados o no) desde el comienzo de la crianza de los animales y en diferentes fases de su ciclo de producción. Las muestras se toman de los diferentes puntos críticos que pueden actuar como fuente de contaminación, para identificarlos y establecer su importancia (Davies, R.H. y Wray, 1996a y b; Kinde *et al.*, 2005; Rose *et al.*, 1999; Funk *et al.*, 2001b:2003; Kranker *et al.*, 2003; Nollet *et al.*, 2005; Beloeil *et al.*, 2007; Rajic *et al.*, 2007). En estos estudios los autores disponen de entre 2 y 90 lotes, dependiendo de la intensidad de muestreo realizado en cada uno de ellos.

En los *estudios sobre la limpieza y desinfección de las instalaciones* se toman muestras antes y después de realizar la limpieza. Se recopilan datos de cómo se ha llevado a cabo el protocolo de limpieza y desinfección y se analiza la información con el fin de establecer la eficacia de las técnicas utilizadas (Davies, R.H. y Wray, 1995; Davies, R.H. y Breslin, 2003; Gradel *et al.*, 2004; Rose *et al.*, 2000; Mannion *et al.*, 2007). Los autores disponen en estos trabajos entre 14 y 90 lotes.

- *Estudios retrospectivos*: En estos estudios, el dato sobre el estatus de contaminación del lote se obtiene a partir de una toma de muestras realizada, normalmente, al final del ciclo productivo. Se registran variables que puedan incidir sobre la positividad del lote y con esta información se lleva a cabo un análisis multivariante. Tras la revisión bibliográfica, se observó que en los estudios epidemiológicos sobre contaminación de *Salmonella*, los estudios retrospectivos más representativos son los realizados a partir de registros estatales de vigilancia en los que se dispone de miles de lotes y pocas variables (Benschop *et al.*, 2010; Smith *et al.*, 2010). Otro tipo de estudio retrospectivo son los estudios de casos y controles (Cardinale *et al.*, 2010; Farzan *et al.*, 2010; Wilkins *et al.*, 2010) que cuentan con un número menor de lotes y un elevado número de variables. Estos estudios parten de que el desenlace del proceso que se estudia (enfermedad, muerte, etc.) ya se ha manifestado (casos) o que el proceso ya ha discurrido sin aparición de dicho desenlace (controles) y comparan ambos grupos con respecto a las características o factores de riesgo prevalecientes cuando todos los sujetos estaban sanos con la finalidad esencial de esclarecer su posible papel causal. Las conclusiones de estos estudios, como el tamaño muestral es, normalmente, equivalente a la población objetivo sí se pueden extrapolar a la globalidad.

La investigación experimental es una modalidad de estudio explicativo que se caracteriza, principalmente, por el hecho de que el investigador controla (al menos parcialmente) las condiciones bajo las cuales se desarrollan los acontecimientos para valorar el efecto de una o varias intervenciones en los sujetos. Los ensayos clínicos son el estudio experimental más frecuente en el mundo de la medicina (Farzan y Frienship, 2010).

3. Investigación predictiva o inferencial: Plantea la conformación de modelos capaces de vaticinar los desenlaces de un proceso según el estado en que se halla un sistema en un momento determinado.

Para el presente trabajo se diseñó un estudio epidemiológico que contenía los tres tipos básicos de investigación empírica. La investigación descriptiva mediante la realización de encuestas epidemiológicas que caracterizaban la población de estudio y el estudio de la capacidad de desarrollo de *biofilm* de las cepas de *Salmonella* aisladas en las explotaciones, la investigación explicativa mediante el diseño de un estudio longitudinal en el cual poder realizar análisis prospectivos (estudio de cohortes, cómo se va transmitiendo la bacteria *Salmonella* entre los factores analizados, incluido la excreción en heces de los animales) y retrospectivos (mediante el análisis de la relación entre variables recogidas en las encuestas epidemiológicas y la detección de la bacteria en las heces o en la explotación a la salida de los cerdos para el sacrificio, y el análisis de la capacidad de desarrollo de *biofilm* después de la limpieza y desinfección en relación con el tipo de desinfectante utilizado en la explotación) y, por último, la investigación inferencial mediante la identificación de los principales factores de riesgo que pueden estar relacionados con la presencia de *Salmonella* en el lote de cerdos al final del periodo de engorde. Para todo ello, se planificó una toma de muestras en diferentes momentos a lo largo del ciclo productivo de los cerdos y se diseñó una encuesta epidemiológica.

El objetivo principal de este estudio era la identificación y cuantificación de factores de riesgo asociados a la contaminación por *Salmonella* en los cerdos de cebo. Para alcanzar este objetivo, se creó un modelo en el que aparecían variables dependientes e independientes, tal y como han realizado otros autores (Rose *et al.*, 1999:2000; Gradel *et al.*, 2004; Cardinale *et al.*, 2004; Kranker *et al.*, 2003; Beloeil *et al.*, 2007). En los estudios epidemiológicos, la variable dependiente representa la probabilidad de que se dé la enfermedad en la población, siendo una variable normalmente categórica y dicotómica (presencia/ausencia), mientras que las variables independientes son los factores que pueden incidir sobre la aparición de dicha enfermedad (Silva y Barroso, 2004). En este modelo se estableció:

- La **unidad muestral**: Se definió como unidad muestral un lote de cerdos en la fase de engorde.
- La **variable dependiente**: Se consideró variable dependiente el estado de contaminación del lote de cerdos en cada muestreo. Para establecer el sentido de la variable dependiente se tomarían muestras de las heces de los cerdos, determinando si el lote era positivo o negativo según se aislase o no *Salmonella* tras su análisis.
- **Variables independientes**: Se consideran variables independientes aquellas que pueden determinar el sentido de la variable dependiente. Estas variables independientes se estudiarían mediante tomas de muestras realizadas sobre varios puntos críticos (posibles fuentes de contaminación) a lo largo de todo el

ciclo productivo (monitorización del lote) y mediante la realización de encuestas epidemiológicas.

Los principales factores que pueden incidir sobre el estatus de contaminación de un lote de cerdos son, tal y como se ha descrito en la bibliografía: la contaminación de los propios cerdos (Funk *et al.*, 2001a; Beloeil *et al.*, 2003), el pienso (Binter *et al.*, 2011), el agua de bebida (Letellier *et al.*, 1999; Oliveira *et al.*, 2002), el propio granjero y las visitas (Rajic *et al.*, 2005; Cardinale *et al.*, 2010), vectores animados que sean portadores de *Salmonella* como roedores (Farzan *et al.*, 2010), insectos (Funk y Gebreyes, 2004; Cardinale *et al.*, 2010), aves silvestres (Barber *et al.*, 2002; Creus *et al.*, 2004a) y/o animales de compañía (Baptista *et al.*, 2010a), así como el ambiente general de las naves (polvo o determinadas superficies) y/o el protocolo de limpieza y desinfección (Funk *et al.*, 2001a; Baptista *et al.*, 2010a; Mannion *et al.*, 2007). Además, en la bibliografía aparecen descritos otros factores de riesgo como el tipo de instalaciones (Hotes *et al.*, 2010), el tamaño del lote o de la explotación (Benschop *et al.*, 2010), la presencia de enfermedades recurrentes (Beloeil *et al.*, 2007), el sistema de producción (Creus *et al.*, 2004a y b; Cardinale *et al.*, 2010) y/o los ciclos anuales y estacionales (Smith *et al.*, 2010).

3.1.2. Selección de los lotes a investigar

En abril del año 2007, la Comunidad Valenciana contaba con una cabaña de 493.058 cerdos de cebo distribuidos de la siguiente forma: Alicante (16.590), Castellón (249.969) y Valencia (226.498) (MARM, 2007).

Para la elección de las granjas participantes en el estudio se contactó con varias empresas propietarias de cerdos en la Comunidad Valenciana y, tras la exposición del objetivo y los procedimientos del estudio, 9 empresas estuvieron dispuestas a participar, de las cuales 2 poseen la mayor parte del cerdo sacrificado en la Comunidad Valenciana.

La selección de las explotaciones se realizó de forma aleatoria, por parte de las empresas. De la misma manera, los ganaderos, propietarios de las instalaciones, tras ser informados de los objetivos del estudio, aceptaron voluntariamente que su explotación formara parte del mismo, contando con un total de 51 explotaciones repartidas a lo largo de la Comunidad Valenciana (Imagen 3.1).

El contacto con los granjeros, la localización de las explotaciones, así como el día de entrada de los lechones y salida de los cerdos de la explotación nos fueron facilitados por las empresas.



Imagen 3.1: Ejemplo ilustrativo del interior de las explotaciones sometidas a estudio.

3.2. ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA

En cada una de las explotaciones muestreadas a lo largo del periodo de engorde del lote de cerdos, se planificó realizar una entrevista al propietario de las instalaciones con el objetivo de obtener información relacionada con las instalaciones y el manejo de los animales objeto de estudio.

Durante el mes de marzo del año 2007 se diseñó la encuesta epidemiológica que, posteriormente, sería utilizada en la entrevista a los propietarios de las explotaciones muestreadas.

En primer lugar, se diseñó un primer borrador de la encuesta. En ella se tratarían aspectos acaecidos durante el ciclo de producción y aspectos relacionados con el proceso de limpieza y desinfección entre lotes. Este primer borrador se construyó con preguntas extraídas y recopiladas a partir de diversos trabajos de investigación ya publicados y previamente revisados.

El borrador de la encuesta fue sometido a examen en 4 explotaciones diferentes. Durante la realización de la entrevista a los propietarios de dichas explotaciones, se encontraba presente el veterinario de una de las empresas que participaban en el estudio. Tras esta prueba a nivel de campo, se eliminaron algunas preguntas que, por estructura del sector ganadero de la zona, no aportarían información. Del mismo modo, se añadieron preguntas no consideradas en el borrador y de las que, tras su análisis, se obtendría información de importancia para el estudio.

Finalmente, se dió por terminada la elaboración de la encuesta y la información recogida en la misma se agrupó en los bloques que aparecen a continuación:

- ✓ Características generales de la explotación: localización, orientación productiva, información sobre el titular y otras.

- ✓ Medidas de bioseguridad: de la explotación y de la nave.
- ✓ Características de las instalaciones: alojamiento de los cerdos, tipo de ventilación, aislamiento, tipos de tolva y de bebedero, etc.
- ✓ Temas relacionados con la producción: censo, porcentaje de mortalidad, procedencia de los lechones, duración del cebo, etc.
- ✓ Características de la alimentación: tipo de pienso y su manejo, detalles de los silos, características del agua de bebida, etc.
- ✓ Temas relacionados con el manejo del personal, de los animales y de los vehículos. El proceso de limpieza y desinfección, la gestión del material de desecho y el control de roedores y plagas.
- ✓ Programa sanitario: Vacunas, patologías, antibióticos utilizados y estado general de los animales.

En cada uno de estos bloques se incluyeron aquellas preguntas relativas al tema considerado y que eran de nuestro interés para el estudio. Los detalles de esta encuesta epidemiológica se muestran en el Anexo 1.

3.3. EPIDEMIOLOGÍA DE *SALMONELLA* EN EL CERDO DE ENGORDE

3.3.1. Estudio de las principales fuentes de contaminación de *Salmonella* en explotaciones porcinas de engorde.

La contaminación de cada uno de los factores que pueden ser una vía de entrada y diseminación de *Salmonella*, se ha evaluado mediante la toma de muestras en las explotaciones porcinas a lo largo del periodo de cebo y tras la limpieza y desinfección, de acuerdo con las recomendaciones de la EFSA (2006).

El procedimiento de muestreo detallado a continuación fue una adaptación de los protocolos recogidos por Davies, R.H. y Wray (1996a), Davies, R.H. y Breslin (2001), Rose *et al.* (1999:2000), Kinde *et al.* (2005), Rajic *et al.* (2005) y Mannion *et al.* (2007).

Todas las muestras citadas se recogieron en condiciones asépticas, se utilizaron guantes estériles (Soft® de RFG Latex Limited), que se desechaban tras la toma de cada muestra, y duquesas estériles (Deltalab® de 500 ml, Barcelona, España) para almacenarla, además del material específico de cada muestra, que de igual manera fue estéril.

3.3.1.1. Estudio de la limpieza y desinfección frente a *Salmonella*.

Para la realización de este estudio, se muestrearon 89 lotes de cerdos antes de la salida al matadero. Una vez limpia y desinfectada la nave, se realizó un segundo muestreo (Figura 3.1).



Figura 3.1: Esquema del plan de muestreo en cada explotación para el estudio de la limpieza y desinfección.

Salida del lote de cerdos anterior (antes de la limpieza y desinfección):

- *Heces*

Para determinar el estatus de *Salmonella* del lote anterior de cerdos, se recogieron muestras de heces con tres pares de calzas de celulosa estériles (Central Médica Vela, S.L.) como recomienda la EFSA (Decisión 2008/55/CE), colocadas encima de calzas de plástico desechables limpias y nuevas para cada muestra. Este método también fue utilizado por Fablet *et al.* (2003) en un estudio de factores de riesgo realizado en explotaciones porcinas de Francia. Cada par de calzas constituyó una muestra de heces que se obtuvo al caminar por tres corrales de cerdos diferentes hasta absorber una cantidad suficiente, aproximadamente 25g, según recomendaciones de la EFSA (2007). En total, se obtuvieron tres muestras de heces de tres zonas distintas de la nave, que se analizaron por separado, para aumentar la probabilidad de detectar *Salmonella* en el caso de que la explotación estuviera contaminada (Imagen 3.2).

El lote se consideraba positivo cuando al menos una de las muestras de heces era positiva a *Salmonella*.



Imagen 3.2: Toma de muestras de heces.

- *Pienso*

Se tomaron dos muestras de pienso diferentes. En primer lugar, se tomó una muestra directamente del silo de la explotación. Se recogieron 500 g de pienso, de forma aséptica, en una duquesa estéril. A continuación, se tomó la segunda muestra de pienso en una duquesa estéril, obtenida de 3 tolvas diferentes de la nave hasta alcanzar 500 g (Rose *et al.*, 1999; Davies, R.H. y Breslin, 2001; Imagen 3.3).

Posteriormente, las muestras de pienso fueron homogeneizadas en el laboratorio y se tomaron 25 g para ser analizados.



Imagen 3.3: Toma de muestras de pienso del silo y de la tolva.

- *Agua*

Se tomaron dos muestras de agua de 500 ml en dos puntos diferentes de la explotación. En primer lugar, se recogieron de forma aséptica 500 ml de agua del depósito general que da suministro a los animales, conforme al protocolo seguido por

Kinde *et al.* (1996) y Mannion *et al.* (2007) con la modificación del aumento del volumen de la muestra. En segundo lugar, se tomó muestra de agua de 3 bebederos de chupete diferentes hasta alcanzar los 500 ml (Imagen 3.4).

Posteriormente, las muestras de agua fueron homogeneizadas en el laboratorio y se tomaron 25 ml de cada una de ellas para su análisis.



Imagen 3.4: Toma de muestras de agua del depósito y del bebedero.

- *Superficies de corral y pasillo*

Las muestras de superficie se recogieron con un paño húmedo estéril (AES Laboratories[®], Bruz Cedex, France), siguiendo los protocolos de Davies, R.H. y Wray, 1996a; Davies, R.H. y Breslin, 2001 y Mannion *et al.* 2007.

Se tomaron dos muestras, una de los corrales y otra del pasillo. La muestra tomada de los corrales consistió en realizar un frotis con el paño húmedo estéril sobre un metro cuadrado repartido entre las paredes de tres corrales diferentes (Imagen 3.5).



Imagen 3.5: Toma de muestras de la superficie de los corrales.

La muestra del pasillo se tomó de la superficie del suelo con un paño, realizando un frotis sobre un metro cuadrado dividido en tres puntos distintos a lo largo del mismo (Imagen 3.6).



Imagen 3.6: Toma de muestras de la superficie del pasillo.

- *Polvo*

La muestra de polvo se recogió en una duquesa estéril, con la ayuda de un depresor estéril de madera (Deltalab[®], S.L.U.), hasta alcanzar un volumen máximo de 500 ml. El polvo se recogió de diferentes puntos de la nave: borde de los muros separadores de corrales, repisas de las ventanas, sistemas de distribución de pienso y agua, y en definitiva, de todos los lugares en los que se depositaba el polvo (Davies, R.H. y Wray, 1996a; Davies, R.H. y Breslin, 2001:2003; Imagen 3.7).

Posteriormente, la muestra fue homogeneizada en el laboratorio y se tomaron 25 g para ser analizados.



Imagen 3.7: Toma de muestras de polvo.

- *Granjero*

Se tomaron muestras de las manos y de las botas de los granjeros de la explotación con un paño húmedo estéril (AES Laboratories®, Bruz Cedex, France) realizando un frotis por toda la superficie siguiendo el protocolo de Rajic *et al.* (2005; Imagen 3.8).



Imagen 3.8: Toma de muestras de botas de granjero.

Se consideraba que la explotación estaba contaminada cuando al menos una de las muestras tomadas daba un resultado positivo a *Salmonella*.

Después de la limpieza y desinfección del lote de cerdos:

- *Polvo*

Para determinar el estatus de *Salmonella* de la explotación después de la limpieza y desinfección se tomaron muestras de polvo siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

- *Superficies de corral y pasillo*

Las muestras de superficie se recogieron con un paño húmedo estéril (AES Laboratories®, Bruz Cedex, France), que se impregnaba con una solución neutralizante (AES Laboratories®, Bruz Cedex, France) con el objetivo de que el desinfectante no afectara a los resultados.

Para tomar las muestras de pasillo se siguió el mismo procedimiento que en el momento de muestreo anterior. En el caso de la muestra del corral, se realizó un frotis con el paño húmedo estéril sobre un metro cuadrado repartido entre las paredes y el suelo de tres corrales diferentes.

- *Superficies de tolvas y bebederos*

Con un paño húmedo estéril se tomaron las muestras de superficie de las tolvas y de los bebederos (Rose *et al.*, 1999; Mannion *et al.*, 2007), impregnándolo de nuevo con la solución neutralizante (AES Laboratories[®], Bruz Cedex, France).

En primer lugar se tomó una muestra de las tolvas, realizando un frotis con el paño en la superficie de tres tolvas diferentes. Con otro paño se tomó la muestra de los bebederos de igual manera, realizando un frotis de 3 bebederos diferentes (Imagen 3.9).



Imagen 3.9: Toma de muestras de superficie: tolva y bebedero.

- *Superficie de las herramientas de la explotación.*

Esta muestra consistía en realizar un frotis de la superficie de la máquina de limpieza, carretilla, escoba, pala, y en definitiva, todas aquellas herramientas que el granjero pudiera utilizar durante la rutina diaria dentro de las naves. Para ello se utilizó un paño húmedo estéril impregnado con la solución neutralizante (AES Laboratories[®], Bruz Cedex, France).

- *Restos de heces*

Se recogieron restos de heces que pudieran quedar en el suelo de los corrales o entre las ranuras del suelo de rejilla de cemento (eslats) después de la limpieza y desinfección (Imagen 3.10). Para ello se utilizó, como ayuda, un depresor de madera estéril (Deltalab[®], S.L.U.) y, en algunos casos de difícil acceso, un paño húmedo estéril (AES Laboratories[®], Bruz Cedex, France).



Imagen 3.10: Toma de muestras de *slats*.

Se consideraba que la explotación estaba contaminada si al menos una de las muestras tomadas daba un resultado positivo a *Salmonella*.

- *Pienso, agua y granjero*

El mismo día en que se tomaban las muestras de la limpieza y desinfección, la nave estaba ya preparada para recibir a los lechones que entraban en la explotación, así que se tomaron muestras de pienso, tanto del silo como de las tolvas; de agua, tanto del depósito como de los bebederos; y de manos y botas del granjero.

La toma de muestras de cada una de ellas se realizó siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente.

3.3.1.2. Estudio de las principales fuentes de contaminación de *Salmonella* durante el periodo de engorde.

Durante el ciclo productivo, cada explotación se visitó en seis ocasiones (Figura 3.2).

La primera visita tuvo lugar el día de entrada de los lechones en la explotación. Y posteriormente, las explotaciones se visitaron 3 veces más, al mes y medio, a los tres meses y el último día del ciclo productivo, cuando los cerdos salieron al matadero. Además, una semana después de la visita del mes y medio y de la salida a matadero, se volvió a las explotaciones en busca de vectores (moscas y roedores).



Figura 3.2: Esquema del plan de muestreo en cada explotación durante el periodo de cebo.

Entrada de los lechones:

- *Heces*

Para determinar el estatus de *Salmonella* del lote de cerdos, el día de entrada de los lechones en la explotación se tomaron muestras de heces (Imagen 3.11).

En total, se obtuvieron tres muestras de heces de tres zonas distintas de la nave, que se analizaron por separado. Las muestras se recogieron con un par de calzas de celulosa (Central Médica Vela, S.L.) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Posteriormente, se analizaron las tres muestras por separado en el laboratorio.



Imagen 3.11: Toma de muestras de heces.

Los lotes de cerdos fueron considerados positivos cuando al menos una de las muestras tomadas resultó positiva a *Salmonella*.

Durante el periodo de cebo

Las explotaciones se muestrearon dos veces durante el periodo de cebo. El primer momento de muestreo fue al mes y medio de estar alojados los cerdos en la nave y el segundo, a los tres meses (Funk *et al.*, 2001a; Kranker *et al.*, 2003; Beloeil *et al.*, 2007).

En estas dos visitas se tomaron el mismo tipo de muestras, todas ellas siguiendo el procedimiento descrito anteriormente para cada una. Se tomaron muestras de pienso en el silo y en las tolvas, y de agua en el depósito y los bebederos. También se tomaron muestras de superficies de corral y pasillo. Además, se tomaron muestras de polvo, de las manos y botas del granjero y de las heces de los cerdos.

En referencia al muestreo de vectores, al mes y medio se realizó un trapeo para moscas y roedores. Del mismo modo, cuando se encontraron deyecciones de pájaros, se recogieron asépticamente para su análisis.

Para optimizar la captura de moscas se utilizaron dos metodologías diferentes: la instalación de trampas para moscas (Econex feeders[®], Econex, Murcia) con cebo atrayente con insecticida (Agita[®] 1GB de Novartis + Quick Bayt[®] de Bayer) en su interior (Kinde *et al.*, 2005) y la colocación de tiras impregnadas con pegamento (Fly-Kol, Kollant). Ambas trampas permanecieron durante una semana en distintos puntos de la nave.

Para el caso de roedores, se realizó un trapeo para la captura de Ratón común (*Mus musculus*), Rata negra (*Rattus rattus*) y Rata parda (*Rattus norvegicus*) como describen Davies, R.H. y Wray (1996b) y Kinde *et al.* (2005). Para ello, se instalaron trampas de captura de diferentes tamaños (Cage All[®], Tom cat[®] y T-Rex[®] form Bell, USA) en el interior de las naves, en los pasillos. En las trampas se colocó un cebo alimenticio, una mezcla de carne picada, queso y frutos secos, y se mantuvieron de 3 a 5 días.

A la semana del trapeo de vectores:

Se recogieron las trampas de moscas y roedores.

- *Moscas*

En el caso de las trampas de moscas con insecticida, las moscas capturadas se introdujeron asépticamente en duquesas estériles mediante la utilización de pinzas quirúrgicas previamente desinfectadas. El cebo se desechó después de su utilización y las trampas se limpiaron y desinfectaron después de cada uso. En el caso de las tiras impregnadas de pegamento, fueron introducidas enteras en las duquesas y analizadas en el laboratorio (Imagen 3.12).



Imagen 3.12: Toma de muestras de moscas con trampas (imagen izquierda) y con tiras (imagen derecha).

- *Roedores*

Los animales capturados se procesaron asépticamente en el laboratorio. De cada roedor se extrajo el hígado, el bazo y el paquete intestinal, que posteriormente se analizaron (Imagen 3.13).

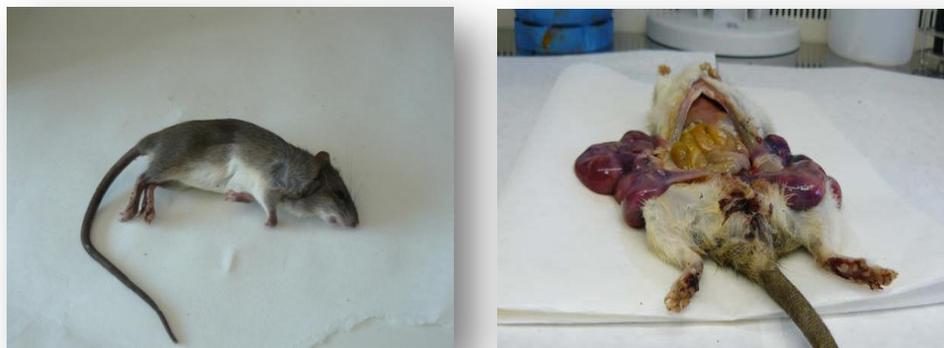


Imagen 3.13: Toma de muestras de roedores y análisis en el laboratorio.

Al final del periodo de engorde:

Al finalizar el periodo de engorde se tomaron muestras de pienso, del silo y de las tolvas; de agua, del depósito y de los bebederos; de superficies, del corral y del pasillo; de polvo y de las manos y botas del granjero de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente.

Además, se tomaron 3 muestras de heces con calzas de celulosa (Central Médica Vela, SL), siguiendo el procedimiento anteriormente descrito.

Durante esta visita, se colocaron trampas para la captura de moscas y roedores de nuevo.

A la semana del segundo trampeo:

Se recogieron las trampas de moscas y de roedores. Los vectores se procesaron como ha sido descrito en el apartado anterior.

3.3.2. Estudio de la dinámica de detección de *Salmonella spp.* en heces a lo largo del periodo de engorde y tras el transporte a matadero.

Para evaluar la dinámica de excreción del cerdo durante la fase de engorde, cada explotación fue visitada en varias ocasiones como se había hecho previamente en otros estudios (Funk *et al.*, 2001a; Kranker *et al.*, 2003; Beloeil *et al.*, 2007). En nuestro estudio, cada explotación se visitó en cuatro ocasiones (Figura 3.3).

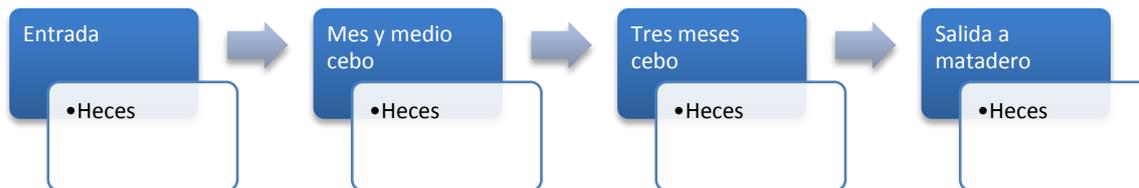


Figura 3.3: Esquema del plan de muestreo en cada explotación a lo largo del periodo de engorde.

Entrada de los lechones en la explotación:

La primera visita fue el día de entrada de los lechones a la explotación. Cuando los lechones llegaron y fueron instalados en los corrales de las naves, se tomaron tres muestras de heces utilizando el método descrito anteriormente. Se tomaron las tres muestras de heces con calzas de celulosa (Central Médica Vela, SL) colocadas encima de calzas de plástico desechables limpias y nuevas para cada muestra. Cada par de calzas constituyó una muestra de heces que se obtuvo al caminar por tres corrales de lechones diferentes hasta absorber una cantidad suficiente de heces. En total, se obtuvieron tres muestras de heces de tres zonas distintas de la nave, que se analizaron por separado.

Se consideró que el lote de cerdos estaba contaminado si al menos una de las tres muestras resultaba positiva a *Salmonella*.

Durante el periodo de engorde:

Durante este periodo se realizaron dos visitas. La primera, al mes y medio de empezar el cebo y la segunda, a los tres meses. Cada vez que se visitó la explotación, se tomaron las tres muestras de heces con calzas de celulosa utilizando el método anteriormente descrito.

Se consideraba que un lote era positivo a *Salmonella* si al menos una de las tres muestras tomadas resultaba positiva a la bacteria.

Al final del periodo de engorde (salida):

En este momento, se tomaron tres muestras de heces con calzas de celulosa siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente. De igual modo que en las ocasiones anteriores, se consideraba que un lote era positivo a *Salmonella* si al menos una de las tres muestras tomadas resultaba positiva a la bacteria.

Día de sacrificio:

Para el estudio de la influencia del transporte en la detección de *Salmonella* se recogieron muestras de heces de 47 lotes de cerdos (Figura 3.4).

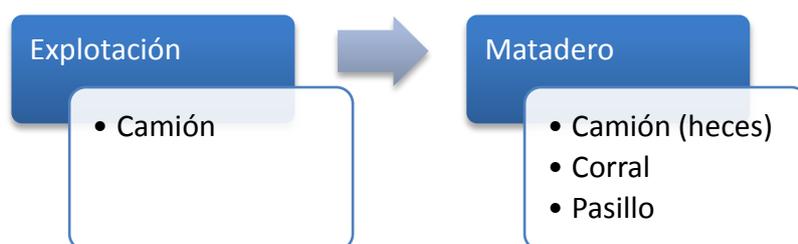


Figura 3.4: Esquema del plan de muestreo el día del transporte a matadero.

A la llegada del camión a la explotación, y antes de que empezara la carga de los animales, se tomó una muestra de superficie del mismo para saber si venía contaminado con la bacteria. La muestra consistía en realizar un frotis, con un paño húmedo estéril (AES Laboratories®, Bruz Cedex, France), sobre un metro cuadrado repartido a lo largo del suelo y paredes del tráiler (Rose *et al.*, 1999) (Imagen 3.14).



Imagen 3.14: Toma de muestras de la superficie del camión.

A la llegada del lote de cerdos al matadero, se tomaron muestras de heces de los animales directamente del camión con calzas de celulosa (Central Médica Vela, SL). La muestra que se obtenía al caminar a lo largo del camión hasta absorber una cantidad suficiente de heces era depositada en una duquesa estéril de 500 ml (Deltalab® 500 ml) para su posterior análisis (Imagen 3.15).



Imagen 3.15: Ascensor del camión con heces.

Además, en los mataderos que lo permitieron, se tomaron tres muestras de las instalaciones. En total, se visitaron 7 mataderos de la zona sudeste del territorio español. Las muestras se tomaron con calzas de celulosa (Central Médica Vela, SL) colocadas encima de calzas de plástico desechables limpias y nuevas entre muestras. Se tomaron dos muestras de los corrales donde iban a ser alojados los cerdos a la espera del sacrificio realizando un paseo a lo largo de dos corrales con un par de calzas para cada uno. Además, se tomó una muestra del muelle de descarga y pasillo por donde pasaban los animales hasta llegar a los corrales, realizando un paseo a lo largo del mismo con un par de calzas.

Cada una de las muestras recogidas se tomó con un par de guantes estériles diferentes (Soft® de RFB Latex Limited) y fue almacenada en una duquesa estéril de 500 ml (Deltalab® 500 ml). Las muestras se conservaron en refrigeración hasta su análisis en el laboratorio de microbiología del Centro de Investigación y Tecnología Animal de Segorbe (Castellón).

3.3.3. Estudio de la capacidad de desarrollo de *biofilm* de las cepas de *Salmonella* aisladas en las explotaciones porcinas.

Para la realización de este estudio se utilizaron las cepas obtenidas en el estudio de la limpieza y desinfección de las explotaciones porcinas frente a *Salmonella*, detallado anteriormente.

3.4. ANÁLISIS LABORATORIAL

Todas las muestras recogidas fueron analizadas de acuerdo con la NORMA ISO 6579:2002 (Anexo D), “Detección de *Salmonella spp.* en heces de animales y en muestras ambientales en la etapa de producción primaria”.

3.4.1. Preenriquecimiento en medio líquido no selectivo

Todas las muestras recogidas se preenriquecieron con agua de peptona tamponada (Buffered peptone water, Scharlau®) en proporción 1:10 (Imagen 3.16). A continuación, se homogeneizaron y se incubaron a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 18 ± 2 horas. En el caso de las muestras de heces, se pesaron y se les añadió la misma cantidad de agua de peptona. Transcurridos quince minutos, se homogeneizaron por agitación y se tomaron 25 gr. A esta cantidad se le añadieron 225 ml de agua de peptona, para conseguir la dilución 1:10, y posteriormente se incubaron. Las muestras de agua y pienso se homogeneizaron por agitación y se tomaron para su análisis 25 ml de agua o 25 gr en el caso del pienso. El resto de muestras recogidas se analizaron en su totalidad.



Imagen 3.16: Preenriquecimiento de las muestras con BPW.

3.4.2. Enriquecimiento selectivo en medio semisólido

Una vez preenriquecidas las muestras, se inocularon 100 μl del caldo preenriquecido de agua de peptona tamponada en tres gotas, distribuidas en tres puntos distintos de la superficie del medio semisólido: Rappaport Vassiliadis Semisólido Modificado (MSRV, Difco®). Las placas se incubaron, sin invertirlas, a $41,5\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24-48 horas. Se realizó una primera lectura a las 24 ± 3 horas y posteriormente, de las placas que habían resultado negativas, se realizó una segunda lectura a las 48 horas.

Las placas positivas mostraban una variación de color de azul a gris blanquecino, con una zona turbia alrededor de la zona inoculada caracterizada por un halo blanco con un borde definido. A las 24 horas, el halo de migración de la bacteria era de aproximadamente 2 cm y podían llegar a ocupar toda la placa a las 48 horas. En las placas negativas no se observaba ningún crecimiento. Los piensos preenriquecidos se inocularon en 2 medios líquidos: Rappaport Vassiliadis de Soja (RVS) y Müller-Kauffman (MK). El RVS se incubó a $41,5\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24-48 horas, de la misma manera que el MSR. El MK se incubó a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 3 horas. Dichos cultivos eran positivos cuando se enturbiaban o cambiaban de color (Imagen 3.17).

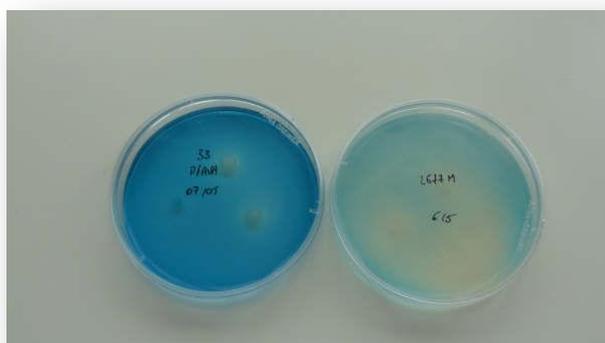


Imagen 3.17: Placas de agar MSR.V negativa y positiva, respectivamente.

3.4.3. Siembra en dos medios sólidos selectivos e indicativos

En el caso de resultar positivo el medio anterior, el cultivo obtenido se homogeneizó y se transfirió a dos medios diferentes:

- Agar XLD (Xylose-lysine-deoxycholate agar, Liofilchem[®]).
- Agar XLT-4 (Xylose-lysine-tergitol-4 agar, Biokar Diagnostics[®]).

Las placas sembradas se incubaban a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 3 horas.

Tras el periodo de incubación, había placas con colonias sospechosas que no se consiguieron aislar, así que se procedió a su agotamiento en agar XLT4 y a su incubación a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

Las colonias sospechosas aisladas en XLD eran de color negro, redondeadas y con halo transparente alrededor, y en XLT4 observábamos colonias negras redondeadas. En ambos casos, el medio no cambiaba de color si el resultado era positivo, es decir, seguía siendo rojo o anaranjado (Imagen 3.18). Cuando el

resultado era negativo, el medio se volvía amarillo y las colonias podían ser de color negro o blanco.



Imagen 3.18: Placa de agar XLT4 positiva.

3.4.4. Confirmación bioquímica

De una de las placas positivas, XLD o XLT-4, se seleccionaron 5 colonias sospechosas aisladas y, tras dividir una placa de agar nutritivo (Nutritive agar medium) en 5 campos, se sembró cada colonia en cada uno de los campos, dibujando una estría (Imagen 3.19). Posteriormente, la placa de nutritivo se incubó a $37\pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 ± 3 horas.

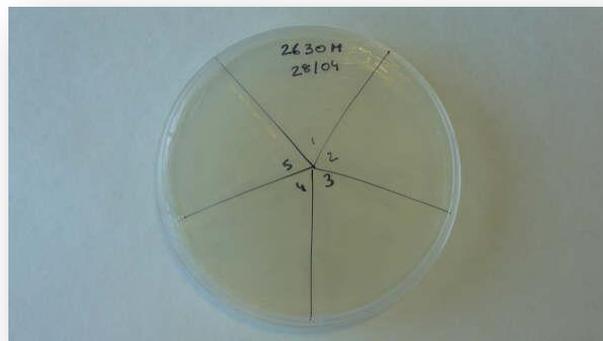


Imagen 3.19: Placa de agar nutritivo.

Una vez crecidas las colonias en la placa de agar nutritivo, se les sometió a la prueba bioquímica del Mucap Test (AES Laboratories). Esta prueba consistía en la adición de una gota de reactivo 4-methylumbelliferyl caprilato sobre la superficie de cada colonia sospechosa, dejándola incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo, se observaban las placas bajo una lámpara de Wood. Las colonias positivas eran las que emitían fluorescencia (Imagen 3.20).

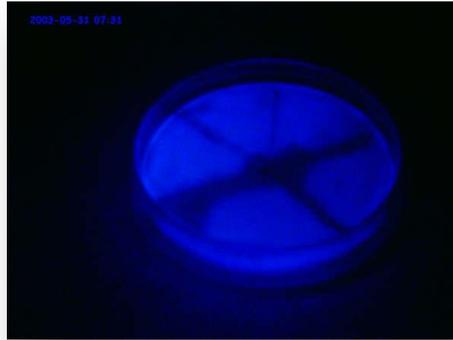


Imagen 3.20: Fluorescencia tras la realización del MUCAP Test en una placa de agar nutritivo con colonias sospechosas de *Salmonella spp.*

Tras esta prueba, se realizó la determinación de la ureasa de las colonias positivas. Una vez inoculadas en 500 μ l de urea (Urea Broth base, Scharlau), se incubaron a 37°C durante 6 horas. Transcurrido este tiempo, procedíamos a la lectura. El resultado era positivo si el medio viraba a rosa, y negativo si el medio mantenía el color (Imagen 3.21). Para *Salmonella spp.* el test debía resultar negativo.



Imagen 3.21: Prueba de la ureasa positiva (*Salmonella spp.* negativa).

Una vez realizadas estas dos pruebas, las colonias que seguían siendo sospechosas de ser *Salmonella spp.* se confirmaron bioquímicamente con las tiras API-20 (API-20[®], bioMérieux, Francia; Imagen 3.22).



Imagen 3.22: Confirmación de *Salmonella* spp. con test API-20.

3.4.5. Serotipado

Las cepas identificadas como *Salmonella* spp. se remitieron, para su serotipado, al Laboratorio Nacional de Referencia para el Programa Nacional de Vigilancia y Control de Salmonelosis (Laboratorio Central de Veterinaria del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Algete, Madrid). El serotipado lo realizaban siguiendo el esquema de Kauffman-White-Le-Minor.

El proceso de serotipado comenzaba con la identificación de la subespecie mediante ensayos bioquímicos. Los antígenos O y H son detectados mediante una “prueba en cascada”, que utiliza reacciones seriadas de aglutinación rápida en placa mediante la adición de sueros específicos de antígeno de aglutinación.

3.4.6. Análisis de la capacidad de desarrollo de *biofilm*

Para estudiar la frecuencia de capacidad de formación de *biofilm*, se analizó la aptitud de las cepas aisladas de *Salmonella* de diferentes orígenes de los lotes de cerdos estudiados. Para evaluar el desarrollo de *biofilm*, se utilizó un método de análisis basado en la fluorescencia de las colonias de *Salmonella* en placas de agar calcofluor (Solano *et al.*, 2002). Los compuestos de la placa del agar calcofluor eran agar Lauria-Bertoni (LB, Sigma Aldrich, Alcobendas, Madrid) con $MgCl_2$ (0,1 M, Merck®, Madrid), Cl_2Ca (0,5 M, VWR®, Barcelona), NaOH (1 M, Merck®), Hepes (1 M) y brillo Fluorescente (1,0%). La solución calcofluor y las placas calcofluor debían ser resguardadas de la luz y conservadas en la oscuridad a 4°C. Cada cepa de *Salmonella* aislada del cerdo fue inoculada en las placas de agar calcofluor por duplicado, incluyendo un control positivo (SE 3934 AbapA :: Km) y un control negativo (SE 3934 Acsg D) para el desarrollo de *biofilm* en cada placa. Las células crecían en las placas de agar calcofluor Luria Bertani (LB) a temperatura ambiente

durante 48 horas en la oscuridad. La fluorescencia se observaba bajo una lámpara de Wood que emitía luz ultravioleta (Imagen 3.23).



Imagen 3.23: Fluorescencia de colonias de *Salmonella* en una placa de agar calcofluor.

3.4.7. Almacenamiento de cepas

Todas las cepas aisladas en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación y Tecnología Animal (Segorbe, Castellón) se almacenaron por duplicado a -80°C en crioviales. Para ello, se inocularon las cepas en 1 ml de LB (LB Broth, Sigma[®]) para su crecimiento y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Al día siguiente, se le añadieron 250 μl de glicerol (Glycerol, Panreac) para su conservación una vez congeladas, y se almacenaron en el congelador a -80°C para posteriores estudios.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.5.1. Análisis estadístico de las encuestas epidemiológicas

Los registros obtenidos a partir de las preguntas de las encuestas se introdujeron en una hoja de cálculo Excel 2007[®]. Esta base de datos se depuró eliminando aquellos registros duplicados o creando nuevos registros derivados. Finalmente, dicha base incluyó más de 160 variables que se analizaron individualmente mediante un test de Chi-cuadrado para establecer su relación con el estatus de contaminación de las heces de los cerdos al final del ciclo productivo o con el estatus de contaminación ambiental de la explotación en ese mismo momento. Para rechazar la hipótesis nula, es decir, “no hay relación” se estableció un $P\text{-valor} \geq 0,05$ (Smith *et al.*, 2010).

El análisis estadístico fue llevado a cabo utilizando un paquete informático de estadística disponible comercialmente (Statgraphics Plus, Version 5.1, STSC Inc., Rockville, MD, USA).

3.5.2. Análisis estadístico de las muestras tomadas a lo largo del estudio

Los resultados obtenidos a partir de los análisis microbiológicos de las diferentes muestras se introdujeron en una hoja de cálculo Excel 2007[®]. Esta base de datos se depuró al finalizar la fase experimental eliminando aquellos registros duplicados o introducidos erróneamente.

Para analizar la prevalencia de contaminación de *Salmonella* según el tipo de muestra y el momento de muestreo (salida del lote anterior y antes de la limpieza y desinfección, después de la limpieza y desinfección, entrada de los lechones, al mes y medio de cebo, a los tres meses de cebo y salida del lote de cerdos) se utilizó el Test de Chi-cuadrado. Por otro lado, se utilizó un procedimiento de dos etapas para analizar la relación entre las muestras tomadas y el estatus de *Salmonella* del lote de cerdos al final del periodo de engorde. La unidad de observación fue el lote de cerdos. Se consideró que un lote estaba contaminado por *Salmonella* si una o más muestras de heces de los cerdos tomadas al final del periodo de engorde resultaban positivas. Por tanto, la variable resultante fue dicotómica (lote contaminado vs. lote no contaminado). Se realizó un análisis de regresión logística según el método descrito por Rose *et al.* (1999) y Fablet *et al.* (2003). En una primera fase, se llevó a cabo un análisis univariante para relacionar la contaminación de *Salmonella* del lote con cada una de las muestras. Sólo los factores asociados con la contaminación de *Salmonella* del lote fueron considerados para el análisis de regresión logística (Test Chi-cuadrado, $P \leq 0,25$) (Cardinale *et al.*, 2010). La segunda fase comprendió un modelo de regresión logística múltiple que incluyó todos los factores que habían superado el primer test (Hotes *et al.*, 2010; Smith *et al.*, 2010). La contribución de cada factor al modelo fue evaluada usando la estimación de los parámetros del modelo (*Odds Ratio*). La variable con la *P* más elevada fue eliminada y se repitió la regresión logística. Este proceso se fue repitiendo hasta que se obtuvo un modelo con un *P*-valor significativo ($P < 0,05$).

Para evaluar la detección de *Salmonella* en heces según el estatus de los cerdos el día de entrada, el primer día de engorde se determinaron dos cohortes (lotes positivos o negativos a *Salmonella*). La detección de *Salmonella* según el estatus de los lotes el día de entrada y el momento de muestreo (mes y medio de cebo, tres meses y salida) fueron analizados mediante un Test de Chi-cuadrado. Los patrones de detección de *Salmonella* en ambos grupos a lo largo del periodo

de engorde fueron comparados usando el Test de Chi-cuadrado. Por otro lado, la relación entre los porcentajes de detección de *Salmonella* antes y después del transporte al matadero fue analizada mediante el mismo test. Además, los serotipos presentes en la producción porcina durante el periodo de engorde y después del transporte al matadero fueron analizados utilizando este mismo Test. Todos los test fueron llevados a cabo utilizando un nivel de significancia de $P < 0,05$ (Funk *et al.*, 2001a; Kranker *et al.*, 2003).

Para evaluar la relación entre las cepas de *Salmonella* aisladas en la producción porcina con la capacidad de desarrollo de *biofilm* y su resistencia contra los desinfectantes utilizados en condiciones de campo se utilizó el Test de Chi-cuadrado. La presencia de *Salmonella* en la producción porcina y el efecto de los serotipos aislados capaces de desarrollar *biofilm* fueron analizados mediante el Test de Chi-cuadrado. Todos los test fueron llevados a cabo utilizando un nivel de significancia de $P < 0,05$.

El análisis estadístico univariante fue llevado a cabo utilizando un paquete informático de estadística disponible comercialmente (Statgraphics Plus, Version 5.1, STSC Inc., Rockville, MD, USA). En el caso del análisis multivariante se utilizó el paquete estadístico SPSS® versión 13.0 (SPSS Inc.® 2004, USA), también disponible comercialmente.

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO

Para la realización del presente estudio se contó con un total de 89 lotes de cerdos, pertenecientes a 51 explotaciones porcinas de engorde de la Comunidad Valenciana, que se monitorizaron durante el periodo comprendido entre abril de 2007 y noviembre de 2009.



Imagen 4.1: Distribución geográfica de las explotaciones porcinas de engorde sometidas a estudio en la Comunidad Valenciana.

En los 89 lotes se evaluó la eficacia de la limpieza y desinfección, llevando a cabo 2 muestreos en cada uno de ellos: una toma de muestras anterior y otra posterior a la realización de la limpieza y desinfección.

En 47 de esos lotes se realizó una monitorización a lo largo de todo el ciclo productivo (desde la entrada de los lechones a la explotación hasta su salida al matadero), realizando en cada uno de ellos 4 muestreos a lo largo del tiempo (entrada, mes y medio, tres meses, salida). Además se monitorizó el transporte a matadero, tomando 2 muestras del camión (antes de cargar a los animales en la explotación y tras su descarga en el matadero), así como las instalaciones del matadero, tomando 3 muestras: 1 del pasillo y 2 muestras de los corrales del matadero donde iba a ser alojado el lote de cerdos hasta su sacrificio.

Para la evaluación de la capacidad de desarrollo de *biofilm* de las cepas aisladas de *Salmonella* en las explotaciones porcinas, se utilizaron las muestras obtenidas en el estudio de la limpieza y desinfección, que contó con los 89 lotes de cerdos del estudio.

4.1.1. Análisis de la Encuesta Epidemiológica.

Las encuestas se completaron en los 47 lotes de cerdos a los que se realizó la monitorización a lo largo del ciclo productivo, pertenecientes a 47 explotaciones diferentes.

Características generales de la explotación

Las 47 explotaciones se encontraban ubicadas en la Comunidad Valenciana, entre Castellón y Valencia, en 27 localizaciones distintas.

Las explotaciones eran en el 100% de los casos de orientación intensiva y en el 95,7% de cebo. Además, en el 91,5% de los casos estaban integradas. La orientación productiva de las explotaciones no pareció influir en la detección de *Salmonella* en las heces de los cerdos a la salida de la explotación ($P \geq 0,05$).

Las distancias al núcleo urbano y otras granjas se resumen en la Tabla 4.1., que aparece a continuación. En cualquier caso, las distancias no parecieron influir en la detección de *Salmonella* en heces a la salida de la explotación ($P \geq 0,05$). Del mismo modo, las distancias a vertederos, mataderos y depuradoras no influyeron en la presencia de *Salmonella* en heces a la salida de la explotación ($P \geq 0,05$; Tabla 4.1).

Sin embargo, la distancia al núcleo urbano pareció influir en la presencia de *Salmonella* en la explotación a la salida de los cerdos ($P = 0,0283$), habiendo un mayor porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella* (87,0%) entre aquellas situadas a

más de 1Km del núcleo urbano (n=23) que en las que estaban situadas a menor distancia (58,3%, n=24).

Tabla 4.1. Distancia de las explotaciones en estudio al núcleo urbano y otras explotaciones e instalaciones, y el valor-P obtenido tras el análisis de las diferentes distancias en relación con el estatus de contaminación de las heces de los cerdos a la salida de la explotación.

	% explotaciones	Valor P
Distancia al núcleo urbano:		
≤1000m	51,1%	0,3010
>1000m	48,9%	
Distancia a otra granja de CERDOS:		
≤1000m	72,3%	0,0640
>1000m	27,7%	
Distancia a una granja de POLLOS:		
≤1000m	80,9%	0,7942
>1000m	19,1%	
Distancia a una granja de GALLINAS:		
≤1000m	12,8%	0,1903
No hay ó >1000m	87,2%	
Distancia a una granja de OTRA ESPECIE:		
≤1000m	29,8%	0,5339
No hay ó >1000m	70,2%	
Distancia a un VERTEDERO:		
≤1000m	8,51%	0,9011
No hay ó >1000m	91,49%	
Distancia a un MATADERO:		
≤1000m	4,26%	0,3715
No hay ó >1000m	95,74%	
Distancia a una DEPURADORA:		
≤1000m	27,66%	0,0797
No hay ó >1000m	72,34%	

Los propietarios de las explotaciones tenían una experiencia en la actividad porcina que oscilaba entre los 2 y los 50 años, siendo 22 años el promedio. En el 42,6% se dedicaban exclusivamente a la producción porcina y, prácticamente, el 57,4% restante compaginaba su actividad con la producción agrícola. Sólo el 29,8% de los granjeros reconoció visitar otras granjas con asiduidad. En cualquier caso, ninguno de estos aspectos estuvo relacionado con la detección de *Salmonella* en heces a la salida de la explotación ($P \geq 0,05$), aunque según el análisis estadístico sí que influyó la visita a otras granjas en la contaminación de la explotación a la salida de los cerdos

($P=0,0405$). El porcentaje de explotaciones contaminadas con la bacteria al final del periodo de engorde fue mayor en aquellas cuyo granjero visitaba otras granjas con asiduidad (92,9%, $n=14$) que en las que no (63,6%, $n=33$).

El número de trabajadores en las explotaciones variaba entre 1 (el propietario) y 6, siendo más frecuente el primer caso en el que el propietario era el granjero de la explotación (66,0%). Este aspecto tampoco influyó en la presencia de *Salmonella* en heces a la salida de la explotación ($P=0,7574$).

Por último, la antigüedad de las explotaciones oscilaba entre 3 y 43 años, teniendo más de 30 años el 40,4% de las explotaciones. Esta característica de las explotaciones no influyó en la detección de *Salmonella* en heces a la salida de los cerdos ($P=0,9202$).

Bioseguridad de la explotación

El acceso a las explotaciones era mediante camino asfaltado en el 44,68% de las explotaciones, siendo de tierra en el 55,32% restante. El 74,47% de las explotaciones disponía de vallado perimetral completo con una única puerta de acceso, el 25,53% restante carecía de vallado perimetral o lo tenía incompleto. De las explotaciones con vallado perimetral, en el 59,6% entraba el camión de pienso dentro del vallado para descargar y en el 66% entraba el camión de carga y descarga de los animales. Además, sólo el 8,5% de las explotaciones disponía de vado sanitario con desinfectante, el 59,6% carecía de él y el 31,9% tenía el vado sanitario seco o con agua de lluvia, en su caso. El 76,6% afirmaba tener otro tipo de sistema de desinfección como la mochila con desinfectante para las ruedas de los coches. Por otro lado, el suelo de las explotaciones era de tierra en el 83,0% de los casos, siendo difícil la limpieza, aunque generalmente no se observaron restos de heces ni pienso por los alrededores de las naves. Según el análisis estadístico, sólo influyó la entrada del camión de pienso dentro del vallado perimetral en la contaminación de las explotaciones a la salida de los cerdos ($P=0,0275$), habiendo un mayor porcentaje de explotaciones positivas entre aquellas en las que no entraba el camión (100%, $n=10$) que en las que sí entraba el camión o no había vallado perimetral (64,9%, $n=37$).

En cuanto a las visitas, en el 95,7% afirmaron restringir las mismas, teniendo el 100% de las explotaciones el libro de visitas y ropa para visitantes que se lavaba tras su utilización. En el 48,94% de las explotaciones afirmaron no dejar entrar a nadie que viniera de otras explotaciones salvo el veterinario y otros casos especiales. Todos los trabajadores disponían de ropa y calzado exclusivos de la explotación que se lavaban regularmente. Ningún aspecto relacionado con las visitas y los trabajadores influyó en la detección de *Salmonella* en heces a la salida de la explotación ($P\geq 0,05$).

Instalaciones

El número de animales por grupo variaba entre 8 y 25, aunque en el 78,7% de explotaciones se encontraba entre 8 y 14 animales por corral. Esta característica influyó en la presencia de *Salmonella* en heces a la salida de los cerdos ($P=0,0271$), siendo mayor el porcentaje de lotes positivos en heces cuando había igual o más de 15 animales/grupo (90,0%, $n=10$) que cuando había menos de 15 (51,4%, $n=37$). En el 80,9% de las explotaciones los cerdos disponían de más de 0,65 m²/animal.

Las características estructurales de las naves se resumen en la Tabla 4.2., no influyendo ninguna de ellas en la detección de *Salmonella* en heces a la salida de los cerdos de la explotación ($P \geq 0,05$).

Tabla 4.2. Características estructurales de las naves de las explotaciones en estudio, y el valor- P obtenido tras el análisis de las diferentes características en relación con el estatus de contaminación de las heces de los cerdos a la salida de la explotación.

	% explotaciones	Valor P
Suelo:		
<i>Slat</i> parcial	68,1%	0,5506
<i>Slat</i> total	31,9%	
Techo:		
Uralita	61,7%	0,4813
Ladrillo	27,7%	
Panel Sándwich	6,4%	
Chapa	4,3%	
Paredes:		
Bloque de hormigón	95,7%	0,0793
Prefabricado	4,3%	
Ventilación:		
Natural	93,6%	0,7959
Forzada	6,4%	
Separadores de los corrales:		
Muro	42,6%	0,8706
Barrotes de prefabricado	44,7%	
Barrotes de hierro	12,8%	
Bebedores:		
Canal	6,4%	0,1146
Chupete	76,6%	
Cazoleta	12,8%	
Chupete + cazoleta	4,3%	
Tolva:		
Tradicional	19,2%	0,4574
Holandesa	72,3%	
Tradicional + Holandesa	6,4%	
Otros	2,1%	

Las instalaciones de las explotaciones estaban, en general, en buen estado. El techo disponía de un aislamiento de poliuretano en el 76,6% de las explotaciones, en cambio, en las paredes no se disponía de aislamiento en el 74,5%.

En cuanto a los bebederos, el 87,2% de las explotaciones los tenían de acero inoxidable y en el 78,7% estaban dentro de los comederos. Los comederos eran de PVC en el 76,6% de las explotaciones y la distribución del pienso era automática en el 95,7% de ellas. El 100% de las explotaciones disponía de silos para almacenar el pienso, siendo de chapa ondulada en el 78,7% de los casos, y el 89,4% disponía de depósitos para almacenar el agua, siendo de muro de hormigón en el 44,7% de los casos.

Los trabajadores disponían de vestuario en el 93,62% de las explotaciones pero carecían de lavamanos con agua caliente. Estos dos aspectos no influyeron en la detección de *Salmonella* en heces a la salida de la explotación ($P=0,1403$ y $P=0,3385$, respectivamente).

Producción

El 83,0% de las explotaciones del estudio tenían un censo menor o igual a 2.000 animales. El 100% de las explotaciones trabajaban por lotes y utilizaban el sistema todo dentro/todo fuera. El porcentaje de mortalidad variaba entre 0,5 y 10%, siendo el promedio del 3,3%. Ninguno de estos datos influyó en la detección de *Salmonella* en heces a la salida ($P \geq 0,05$).

Los lechones procedían de una única explotación en el 87,2% de los casos, a una distancia máxima de 524 Km, siendo el promedio de 216 Km. Entraban con 8 semanas de edad (72,34%) y 18Kg de peso (46,8%). El cebo duraba entre 3 y 6 meses, siendo de promedio 5 meses (63,8%) y los cerdos salían al matadero con 110 Kg de media (48,9%). Ninguno de estos datos influyó en la detección de *Salmonella* en heces a la salida ($P \geq 0,05$).

Alimentación

El pienso era granulado en el 89,4% de las explotaciones y seco en el 72,34%. No se medicaba sistemáticamente, sólo las tres primeras semanas de los lechones (97,9%). El pienso era elaborado por la integradora (89,4%) y se reponía entre 3,5 y 15 días, siendo semanalmente de media (63,8%). En el 53,2% se añadían acidificantes en el pienso y no contenían harinas de pescado (97,87%). Los silos se vaciaban totalmente cada crianza o tras utilizar piensos medicados (91,49%) y sólo en 1 o 2 casos se había utilizado alguna vez un producto para limpiar el interior. El 100% de los silos estaba protegido frente a pájaros.

El agua provenía de red en el 61,7% de las explotaciones y de pozo en el 38,3%. Se hacía cloración en el 68,1% de los casos mediante pastillas de cloro (63,8%) que se reponían según se terminaban, aproximadamente cada 10 días. La potabilidad se verificaba cada crianza (40,43%) mediante análisis laboratorial (57,45%). En el 100% de las explotaciones reconocieron no limpiar los depósitos y tuberías regularmente.

Ni las características del pienso ni del agua influyeron en la detección en heces de *Salmonella* a la salida ($P \geq 0,05$) pero sí parecieron influir el tiempo de reposición y la presencia de acidificantes en el pienso en la detección de *Salmonella* en la explotación a la salida de los cerdos al matadero ($P=0,0257$ y $P=0,0075$). En las explotaciones donde el tiempo de reposición del pienso era menor o igual a 7 días ($n=33$) el porcentaje de positividad fue mayor (81,8%) que en aquellas explotaciones cuyo tiempo de reposición era mayor de 7 días (50,0%, $n=14$). En las explotaciones que utilizaban acidificantes en la dieta ($n=25$) el porcentaje de positividad al final del engorde fue mayor (88,0%) que en las explotaciones donde no se utilizaban acidificantes (52,4%, $n=21$).

Manejo

Los propietarios de las explotaciones reconocieron no limpiarse las botas al entrar y salir de naves separadas (78,72%) pero afirmaron lavarse las manos regularmente (93,62%). Estas características no influyeron en la detección de *Salmonella* en heces a la salida de la explotación ($P \geq 0,05$).

En el 97,87% de las explotaciones se disponía de enfermería o lazareto para los animales retrasados o enfermos y en el 70,21% los animales alojados allí se quedaban hasta el final del engorde. Además, el 36,17% de las explotaciones disponía de circuito secundario para agua medicada, aspecto que influyó en la detección de *Salmonella* en heces a la salida de la explotación ($P=0,0166$). En las explotaciones donde se disponía de circuito secundario para agua medicada ($n=17$) hubo un mayor porcentaje de lotes positivos a la salida de la explotación (82,4%) que en aquellas explotaciones donde no había circuito secundario (46,7%, $n=30$).

Los vehículos utilizados para el pienso y el transporte de animales eran propiedad de las integradoras y por tanto, se compartían con otras explotaciones (95,74%). Los granjeros afirmaron que tras la carga y descarga de animales se limpiaba la zona adecuadamente (87,23%). Ninguno de estos datos influyó en la presencia de *Salmonella* en heces a la salida de la explotación ($P \geq 0,05$).

En todas las explotaciones salvo una, afirmaron tener un plan de limpieza y desinfección detallado (97,87%). El tiempo que tardaban en vaciar las naves variaba desde días hasta 3 meses y medio, siendo el promedio de 1 mes (72,34%). En el 68,09% de las explotaciones comenzaban a limpiar cuando las naves estaban vacías del

todo y el vacío sanitario mínimo variaba entre 3 y 30 días, siendo el promedio de 10 días. El vaciado de las fosas se producía conforme se llenaba (70,21%) y en el 61,7% de las explotaciones reconocieron no limpiarlas ni comprobar que estaban limpias (63,83%). La limpieza y desinfección era realizada por el granjero o algún trabajador, en su caso, sólo en 1 explotación afirmaron que realizaba la limpieza una empresa especializada. En el 76,60% de las explotaciones no utilizaban ningún insecticida y el orden de limpieza consistía en eliminar primero el material grosero con una pala o cepillo (48,94%) y a continuación aplicar agua fría a presión (95,74%). El 85,11% de las explotaciones afirmaba esperar hasta el secado de las instalaciones para aplicar el desinfectante mediante pulverización (95,74%), siempre comprobando que no quedaran restos de heces (97,87%). Los desinfectantes más utilizados fueron aquellos cuyo principio activo era un derivado fenólico o formaldehído (40,43% y 38,3%, respectivamente). En el 97,87% afirmaron no utilizar detergente para la limpieza y aprovechar el vacío de las naves para realizar las reparaciones oportunas (93,62%). Además, en 3 de las 47 explotaciones se realizaba un encalado de suelo y paredes tras la limpieza y desinfección. Las explotaciones con un periodo de vacío sanitario mayor o igual a 7 días (n=43) obtuvieron significativamente ($P=0,0111$) un mayor porcentaje de lotes positivos a la salida de la explotación (65,1%) que las explotaciones con un periodo mínimo menor de 7 días (0%, n=4). El desinfectante utilizado influyó significativamente en el estatus de contaminación ambiental de la explotación a la salida de los cerdos ($P=0,0028$), siendo más duradero o teniendo más efecto el desinfectante con formaldehído o el combinado de formaldehído con glutaraldehído que tuvieron 44,0% y 60,0% de explotaciones positivas al final del engorde, respectivamente. Sin embargo, los desinfectantes con glutaraldehído sólo o con derivados fenólicos tuvieron un porcentaje mayor de explotaciones positivas al final del engorde (100% y 94,7%, respectivamente).

En relación al material de desecho, el 100% de las explotaciones almacenaban el purín en las mismas fosas debajo de las naves o en balsas a menos de 200 metros y el 78,72% reconocían ir retirando el purín de la explotación según necesidad. Los cadáveres se almacenaban en contenedores herméticos e impermeables (65,96%) o se llevaban a casetas comunes (31,91%). Los contenedores se situaban a menos de 200 metros de las naves en el 55,32% de las explotaciones y el camión de retirada de cadáveres pasaba por la explotación 2 veces/semana (57,45%). Ninguno de estos datos influyó en la presencia de *Salmonella* en heces a la salida de la explotación ($P \geq 0,05$).

Para el control de roedores y plagas el 85,11% de las explotaciones disponían de un protocolo activo establecido. El 80,85% de las explotaciones carecía de vegetación abundante en los alrededores de las naves y el 87,23% mantenía el lugar limpio y ordenado. Los granjeros afirmaban realizar una comprobación diaria de que no hubiera ratas, pájaros, etc. en el interior de las naves (95,74%) y realizar un mantenimiento preventivo para evitar su entrada (85,11%), aún así en el 38,30% de

las explotaciones había huecos por donde podían entrar fácilmente roedores, gatos, pájaros, etc. En el 91,49% de las explotaciones se utilizaban cebos en forma de pastillas que se colocaban en diferentes momentos y lugares (Tabla 4.3). El 80,85% de las naves disponía de protección antiaves en ventanas en buen estado y el 65,96% tenía otros animales en la misma explotación: perros, gatos, caballos, gallinas, etc. Ninguno de estos datos influyó en la presencia de *Salmonella* en heces ni en la explotación a la salida de los cerdos ($P \geq 0,05$).

Tabla 4.3. Cuadro resumen de los tipos, momentos y lugares de colocación de los cebos utilizados a lo largo del periodo de crianza de los cerdos para la desratización. Además, el valor-*P* obtenido tras el análisis de las diferentes características en relación con el estatus de contaminación de las heces de los cerdos a la salida de la explotación.

	% explotaciones	Valor <i>P</i>
Tipo de cebo:		
No se utilizan	4,26%	0,4795
Pastillas	91,49%	
Cebo fresco	4,26%	
Momento de colocación de los cebos:		
No se utilizan	4,26%	0,3742
Durante el vacío sanitario	6,38%	
Durante toda la crianza	65,96%	
Durante la crianza y el vacío sanitario	19,15%	
Cuando se observan roedores	4,26%	
Localización de los cebos:		
No se utilizan	4,26%	0,9713
Alrededor de la nave	51,06%	
Dentro de la nave	14,89%	
Dentro y fuera de la nave	29,79%	

Programa sanitario

En el 100% de las explotaciones afirmaron vacunar a sus animales de las 3 dosis de Aujeszky y el 85,11% diagnosticaba las patologías que sufrían sus animales mediante signos clínicos, pero en el 100% desconocían haber padecido anteriormente algún brote de salmonelosis. El 91,49% afirmó no utilizar un único antibiótico para todas las patologías y que el veterinario era el que prescribía la medicación (85,11%). En el 74,47% de las explotaciones no se diagnosticaban las causas de muerte salvo circunstancias especiales, como muerte masiva, en las que se realizaba una necropsia. Este hecho influyó en la contaminación de *Salmonella* de la explotación a la salida ($P=0,0059$). El 82,9% de las explotaciones que reconocieron no diagnosticar las causas de muerte ($n=35$) estaban contaminadas a la salida de la explotación de los cerdos, sin embargo, de las explotaciones que sí solían diagnosticar las causas sólo el 41,7% resultó positivo.

En las explotaciones visitadas, se observó a los animales en buen estado (85,11%), sin problemas respiratorios (95,74%) ni diarreas generalizadas (95,74%) ni problemas de artritis (100%). En cualquier caso, ninguno de estos datos influyó en la presencia de *Salmonella* en heces a la salida de la explotación ($P \geq 0,05$).

4.2. DETECCIÓN DE *SALMONELLA* EN LAS EXPLOTACIONES PORCINAS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

Durante el desarrollo del presente estudio, se muestrearon 89 lotes de cerdos de 51 explotaciones diferentes con el objetivo de determinar la presencia de *Salmonella*. Se tomaron un total de 3255 muestras en diferentes momentos del ciclo productivo de los cerdos, hasta su salida a matadero, y el 20,7% de las muestras recogidas fueron positivas a *Salmonella*.

El estudio comenzó en Abril de 2007 y finalizó en Noviembre de 2009. De las muestras tomadas en las explotaciones, se analizó la dinámica de detección de *Salmonella* a lo largo de los tres años que duró el estudio (Figura 4.1). Los resultados mostraron un porcentaje menor de muestras positivas en el año 2007 (14,3%) y el mayor porcentaje de muestras positivas en 2008 (24,4%). En el año 2009, el porcentaje de muestras positivas fue del 19,6%. Se encontraron diferencias significativas entre los diferentes años de muestreo ($P=0,0001$).

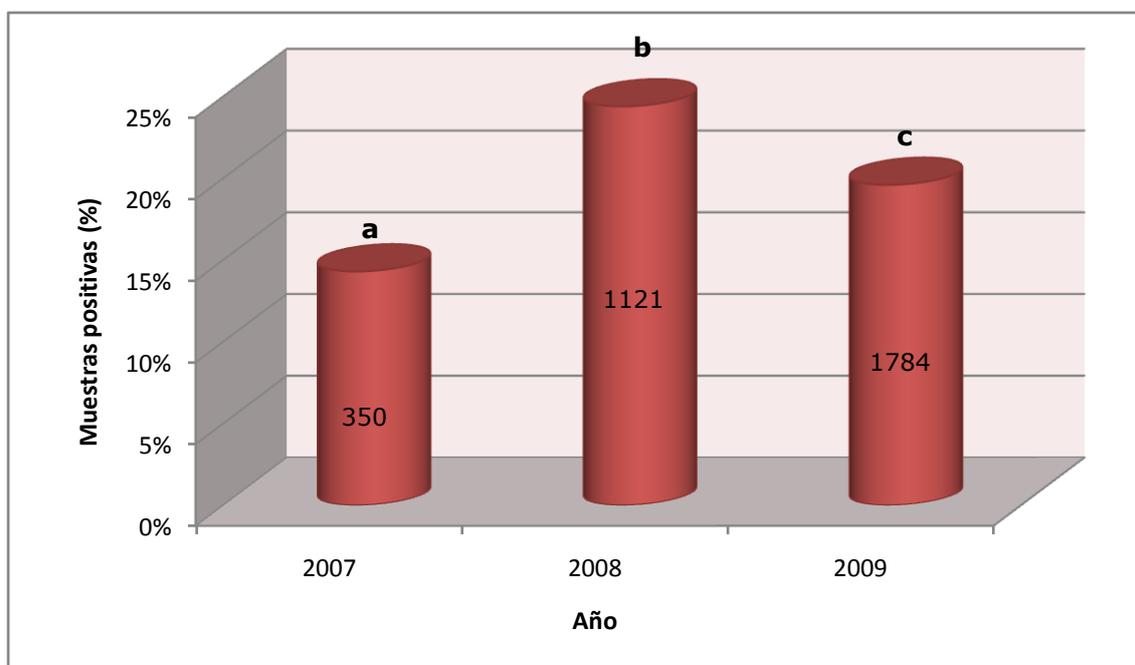


Figura 4.1. Detección de *Salmonella* a lo largo del periodo de estudio. ^{a-c} Los diferentes superíndices en cada columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$). Los datos del interior de las barras son el número de muestras tomadas cada año.

Se analizaron las muestras tomadas en cada estación del año para observar la estacionalidad de *Salmonella* a lo largo del año (Figura 4.2). Se observó un mayor porcentaje de muestras positivas en Otoño (26,3%), mientras que en Verano se observó el menor porcentaje (16,6%). Por otro lado, en Primavera el porcentaje de muestras positivas fue del 20,5% y en Invierno del 19,4%. Se encontraron diferencias significativas entre las diferentes estaciones del año ($P=0,0000$).

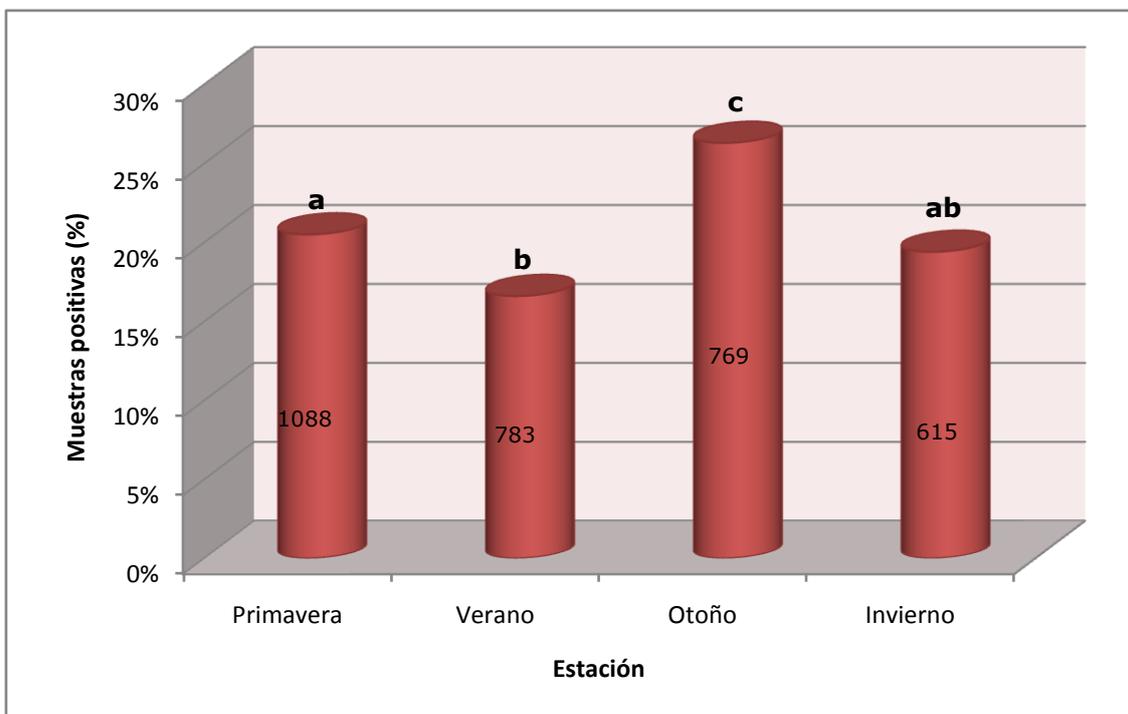


Figura 4.2. Detección de *Salmonella* en las diferentes estaciones del año. ^{a-c} Los diferentes superíndices en cada columna indican diferencias significativas ($P<0,05$). Los datos del interior de las barras son el número de muestras tomadas en cada estación del año.

4.2.1. Contaminación ambiental de *Salmonella* en las explotaciones porcinas durante el periodo de engorde.

Estudio de la limpieza y desinfección frente a Salmonella

Para el presente estudio se contó con la participación de 89 lotes de cerdos diferentes. Cuando el lote de cerdos salió al matadero, se encontraron diferencias significativas ($P=0,0002$) entre la presencia de *Salmonella* en las explotaciones y el momento de muestreo (antes y después de la limpieza y desinfección). Los resultados mostraron que el 78,7% de las explotaciones porcinas fueron positivas a *Salmonella* antes de la limpieza y desinfección y el 70,8% permanecieron positivas después en alguna de las muestras recogidas. Si nos centramos en las muestras recogidas antes de

la limpieza y desinfección, se encontraron diferencias significativas entre la contaminación de *Salmonella* y el tipo de muestra recogida ($P=0,0000$). Antes de la limpieza y desinfección, las explotaciones estuvieron contaminadas (de mayor a menor medida) en heces (65,2%), superficie del pasillo (47,2%), manos y botas del granjero (28,1%), polvo (27,0%), superficie del corral (16,9%), pienso de la tolva (10,8%), agua del bebedero (10,1%), pienso del silo (6,0%) y agua del depósito (4,5%, Tabla 4.1). Además, también se encontraron diferencias significativas entre la contaminación de *Salmonella* y el tipo de muestra recogida después de la limpieza y desinfección ($P=0,0000$). Después de la limpieza y desinfección, el 70,8% de las granjas permanecieron positivas a *Salmonella* en alguna de las muestras tomadas (Tabla 4.4). Se detectó *Salmonella* (de mayor a menor medida) en restos de heces (39,3%), superficie de la tolva y superficie del pasillo (32,6%), superficie del corral (22,5%), superficie del bebedero (21,4%), material de limpieza (16,9%), manos y botas del granjero (15,1%), polvo (14,5%), pienso de la tolva (4,6%), agua del depósito (3,4%), agua del bebedero (2,3%) y pienso del silo (1,6%).

Tabla 4.4. Porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella* según las muestras recogidas el día de la salida a matadero del lote de cerdos y tras la limpieza y desinfección de la nave.

Muestras	Antes de la limpieza y desinfección			Después de la limpieza y desinfección		
	n	<i>Salmonella</i> (%)	E.E.	n	<i>Salmonella</i> (%)	E.E.
Agua Depósito	89	4,5 ^a	2,2	88	3,4 ^a	2,0
Agua Bebedero	89	10,1 ^{ab}	3,2	88	2,3 ^a	1,6
Pienso Silo	83	6,0 ^a	2,6	62	1,6 ^a	1,6
Pienso Tolva	83	10,8 ^{ab}	3,4	44	4,6 ^a	3,2
S. Corral	89	16,9 ^{bc}	4,0	89	22,5 ^{bc}	4,5
S. Pasillo	89	47,2 ^d	5,3	89	32,6 ^c	5,0
Polvo	89	27,0 ^c	4,7	83	14,5 ^b	3,9
Granjero	89	28,1 ^c	4,8	86	15,1 ^b	3,9
Heces	89	65,2 ^e	5,1	89	39,3 ^c	5,2
Material limpieza	-	-	-	89	16,9 ^b	4,0
S. Bebedero	-	-	-	89	21,4 ^{bc}	4,4
S. Tolva	-	-	-	89	32,6 ^c	5,0

E.E.: Error estándar. L.A.: Lote anterior. n: Número de explotaciones muestreadas. S.: Superficie. *Salmonella* (%): Porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella* en función de la muestra recogida. ^{a-e} Los diferentes superíndices en cada columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$).

Cuando el lote de cerdos salió al matadero, se encontraron diferencias significativas ($P=0,0002$) entre la presencia de *Salmonella* en las muestras y el momento de muestreo (antes y después de la limpieza y desinfección; Figura 4.3). Concretamente, se encontraron diferencias significativas en las heces antes y después de la limpieza ($P=0,0006$), en el agua del bebedero ($P=0,0308$), en las manos y las botas

del granjero ($P=0,0374$), en el polvo ($P=0,0439$) y en la superficie del pasillo ($P=0,0466$). En el agua del depósito y en la superficie del corral no se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$).

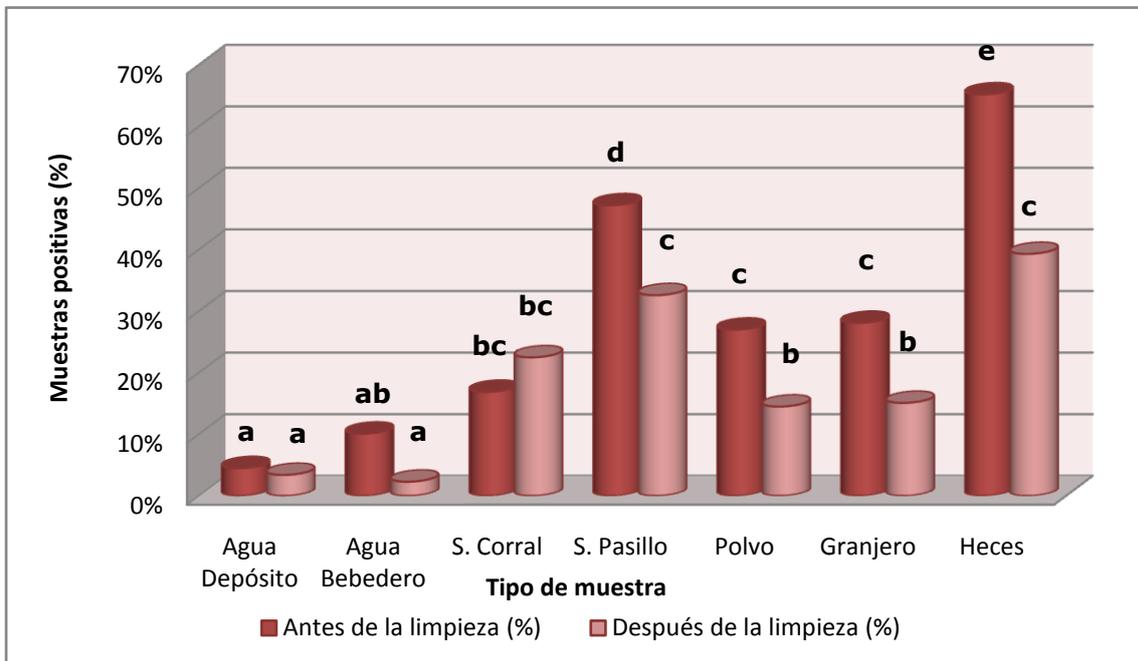


Figura 4.3. Detección de *Salmonella* en diferentes muestras. ^{a-e} Los diferentes superíndices en cada columna indican diferencias significativas ($P<0,05$) en cada uno de los momentos de muestreo, antes y después de la limpieza y desinfección.

De acuerdo con los datos obtenidos de las encuestas realizadas a nivel de granja y comentados anteriormente, en todas las explotaciones los propios granjeros llevaron a cabo los procedimientos de limpieza y desinfección, sin ayuda de ninguna empresa externa. Antes de la desinfección, se limpiaron las naves con agua fría a presión y, posteriormente, se dejaron secar. Los principios activos de los desinfectantes usados fueron: derivados fenólicos (43% granjas), glutaraldehído (10% granjas), formaldehído (36% granjas) y compuestos de formaldehído más glutaraldehído (11% granjas). Se encontraron diferencias significativas sobre la eficacia de cada tratamiento en los niveles de contaminación tras la limpieza y desinfección ($P=0,0290$), sin embargo no se puede afirmar con total seguridad. El desinfectante menos eficaz frente a *Salmonella* fue el derivado fenólico. Tras su uso, el 86,8% de las explotaciones de cerdos permanecieron positivas. Después del uso del compuesto formaldehído más glutaraldehído, el 70,0% de las explotaciones permanecieron positivas y tras el uso del formaldehído y del glutaraldehído, el 56,3% y el 55,6% de las explotaciones de cerdos permanecieron positivas, respectivamente.

Estudio de las principales fuentes de contaminación de *Salmonella* durante el periodo de engorde

Como se ha descrito anteriormente, el día de entrada de los lechones todas las muestras tomadas permanecían contaminadas en alguna de las explotaciones. Cuando los lechones llegaron desde las naves de transición con dos meses de edad, el 53,2% de los lotes resultaron positivos a *Salmonella* en las heces. Por tanto, tras la llegada de los lechones, el 85,1% de las explotaciones estaban contaminadas de nuevo con la bacteria.

Al mes y medio de cebo, se detectó la bacteria en el 55,6% de las explotaciones muestreadas. Se encontraron diferencias significativas entre la contaminación de *Salmonella* y el tipo de muestra tomada ($P=0,0000$) (Tabla 4.5). Las naves estuvieron contaminadas (de mayor a menor medida) en heces (44,4%), manos y botas del granjero (15,9%), polvo (13,6%), superficies del pasillo y del corral (8,9%), agua del bebedero (8,9%) y agua del depósito (2,2%).

Tabla 4.5. Porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella* según las muestras tomadas al mes y medio de cebo.

Muestras	n	<i>Salmonella</i> (%)	E.E.
Agua Depósito	45	2,2 ^a	2,2
Agua Bebedero	45	8,9 ^{ab}	4,3
Superficie Corral	45	8,9 ^{ab}	4,3
Superficie Pasillo	45	8,9 ^{ab}	4,3
Polvo	44	13,6 ^b	5,2
Granjero	44	15,9 ^b	5,6
Heces	45	44,4 ^c	7,5

E.E: Error estándar. n: Número de explotaciones muestreadas. *Salmonella* (%): Porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella*.

^{a-c} Los diferentes superíndices en cada columna indican diferencias significativas ($P\leq 0,05$).

Tras realizar el análisis de las muestras recogidas a los tres meses de cebo, el 63,8% de las explotaciones de cerdo muestreadas estuvieron contaminadas con *Salmonella*. Se encontraron diferencias significativas entre la contaminación de *Salmonella* y el tipo de muestra recogida ($P=0,0000$) (Tabla 4.6). Las naves estuvieron contaminadas (de mayor a menor medida) en heces (46,8%), polvo (26,1%), superficie del pasillo (25,5%), manos y botas del granjero (20,0%), superficie del corral (12,8%), agua del depósito y del bebedero (4,4% y 4,3%, respectivamente).

Tabla 4.6. Porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella* según las muestras tomadas a los tres meses de cebo.

Muestras	n	<i>Salmonella</i> (%)	E.E.
Agua Depósito	46	4,4 ^a	3,0
Agua Bebedero	47	4,3 ^a	3,0
Superficie Corral	47	12,8 ^{ab}	4,9
Superficie Pasillo	47	25,5 ^b	6,4
Polvo	46	26,1 ^b	6,5
Granjero	45	20,0 ^b	6,0
Heces	47	46,8 ^c	7,4

E.E: Error estándar. n: Número de explotaciones muestreadas. *Salmonella* (%): Porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella*.

^{a-c} Los diferentes superíndices en cada columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$).

Tras realizar el análisis de las muestras recogidas al final del periodo de engorde, el 86,4% de las explotaciones de cerdo muestreadas estuvieron contaminadas con *Salmonella*. Se encontraron diferencias significativas entre la contaminación de *Salmonella* y el tipo de muestra recogida ($P=0,0000$) (Tabla 4.7). Las naves estuvieron contaminadas (de mayor a menor medida) en heces (63,6%), superficie del pasillo (54,6%), polvo (40,9%), manos y botas del granjero (34,1%), agua del bebedero (11,4%), agua del depósito (9,1%) y superficie del corral (6,8%).

Tabla 4.7. Porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella* según las muestras tomadas a la salida del lote de cerdos en estudio.

Muestras	n	<i>Salmonella</i> (%)	E.E.
Agua Depósito	44	9,1 ^a	4,4
Agua Bebedero	44	11,4 ^a	4,8
Superficie Corral	44	6,8 ^a	3,8
Superficie Pasillo	44	54,6 ^{bc}	7,6
Polvo	44	40,9 ^b	7,5
Granjero	44	34,1 ^b	7,2
Heces	44	63,6 ^c	7,3

E.E: Error estándar. n: Número de explotaciones muestreadas. *Salmonella* (%): Porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella*.

^{a-c} Los diferentes superíndices en cada columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$).

En la Figura 4.4., que aparece a continuación, se representa gráficamente la evolución en el porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella* a lo largo del ciclo productivo de los 47 lotes de cerdos estudiados ($P=0,0010$). Se observó un mayor porcentaje de explotaciones positivas a la entrada (85,1%) y a la salida (86,4%) de los lotes de cerdo en estudio. Al mes y medio y a los tres meses de estar alojados los cerdos en las explotaciones, se detectó un porcentaje menor de explotaciones positivas a *Salmonella*, 55,6% y 63,8%, respectivamente.

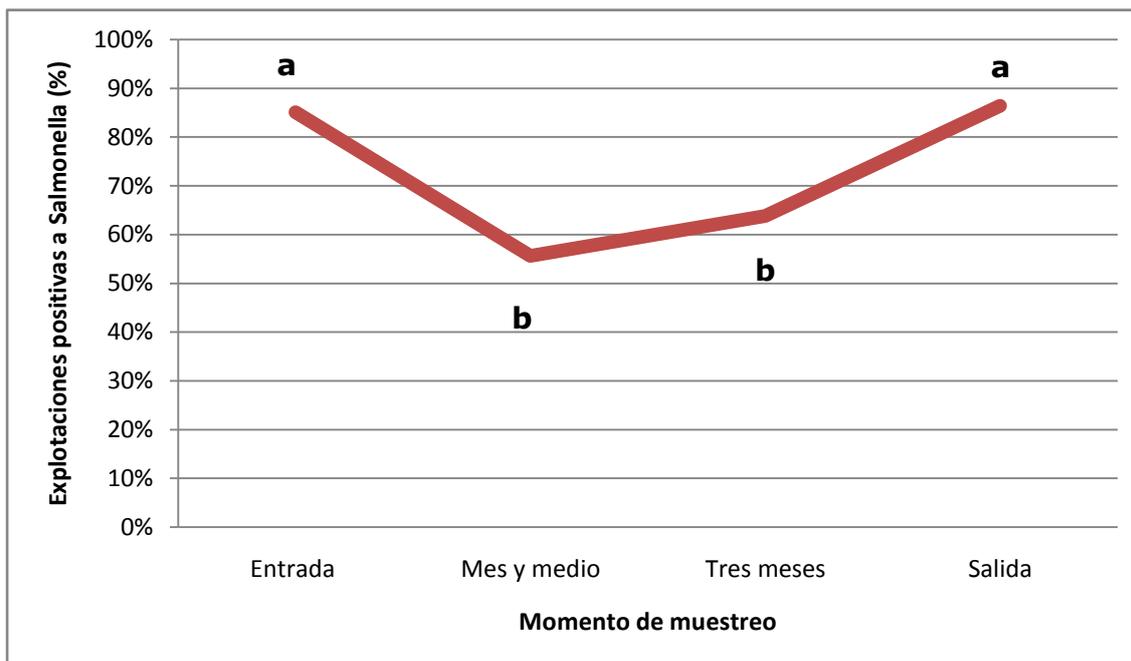


Figura 4.4. Porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella* en los diferentes momentos de muestreo a lo largo del ciclo productivo de los 47 lotes de cerdos estudiados. ^{a,b} Los diferentes superíndices en la línea indican diferencias significativas ($P < 0,05$) en cada uno de los momentos de muestreo.

En cuanto a las muestras de pienso tomadas a lo largo del ciclo productivo, no se encontraron diferencias significativas entre la contaminación de *Salmonella* de las muestras tomadas del silo y aquellas tomadas de las tolvas ($P > 0,05$). Las muestras de pienso tomadas directamente del silo resultaron negativas a *Salmonella* en el 94,6% de los casos ($n=223$). Tras entrar en contacto directo con el ambiente de la explotación y los cerdos, las muestras de pienso recogidas de las tolvas resultaron contaminadas en el 7,4% de los casos ($n=216$).

La prevalencia total de vectores positivos capturados fue del 29,7% ($n=111$). No se hallaron diferencias significativas entre la contaminación de *Salmonella* y el vector capturado ($P > 0,05$). La positividad fue (de mayor a menor medida): moscas (31,5%) y roedores (26,3%).

A continuación, una tabla resumen de todas las muestras tomadas en cada uno de los momentos muestreados a lo largo del ciclo productivo de los lotes de cerdos estudiados, en la que se incluyen los resultados obtenidos de las muestras de pienso (Tabla 4.8).

Tabla 4.8. Porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella* para cada tipo de muestra según el momento de muestreo: después de la limpieza del lote anterior y entrada de los lechones, al mes y medio, a los tres meses y a la salida de los cerdos al matadero.

Muestras	Entrada			Mes y medio			Tres meses			Salida		
	n	<i>Salmonella</i> (%)	E.E.	n	<i>Salmonella</i> (%)	E.E.	n	<i>Salmonella</i> (%)	E.E.	n	<i>Salmonella</i> (%)	E.E.
Agua	46	0,0	0,0	45	2,2	2,2	46	4,4	3,0	44	9,1	4,4
Depósito												
Agua	47	2,1	2,1	45	8,9	4,3	47	4,3	3,0	44	11,4	4,8
Bebedero												
Pienso	43	2,3	2,3	45	4,4	3,1	46	8,7	4,2	43	4,7	3,3
Silo												
Pienso	35	5,7	4,0	45	4,4	3,1	47	6,4	3,6	43	11,6	5,0
Tolva												
Superficie	47	23,4	6,2	45	8,9	4,3	47	12,8	4,9	44	6,8	3,8
Corral												
Superficie	47	27,7	6,6	45	8,9	4,3	47	25,5	6,4	44	54,6	7,6
Pasillo												
Polvo	44	13,6	5,2	44	13,6	5,2	46	26,1	6,5	44	40,9	7,5
Granjero												
Heces	46	13,0	5,0	44	15,9	5,6	45	20,0	6,0	44	34,1	7,2
Heces												
	47	53,2	7,4	45	44,4	7,5	47	46,8	7,4	44	63,6	7,

E.E: Error estándar. n: Número de explotaciones muestreadas. *Salmonella* (%): Porcentaje de explotaciones positivas a *Salmonella*.

Principales factores de riesgo para la contaminación de *Salmonella* en los lotes de cerdos al final del periodo de engorde

Los resultados de este estudio sugirieron que las heces de los cerdos y la superficie del corral antes de la limpieza y desinfección, así como la superficie de la tolva después de la limpieza y desinfección fueron los tres principales factores de riesgo relacionados con la presencia de *Salmonella* en heces en el lote al final del periodo de engorde (Tabla 4.9).

Tabla 4.9. Relación entre el estatus de la explotación antes de la limpieza y desinfección, las muestras tomadas después de la limpieza y desinfección y el día de entrada de los lechones con el estatus del lote de cerdos para *Salmonella* al final del periodo de engorde.

Muestras	B	Exp(B)	I.C. para Exp (B) 95%
Superficie Corral A/L+D	0,437	1,547	0,103-23,176
Superficie Pasillo A/L+D	-3,116	0,044	0,002-0,847
Granjero A/L+D	-0,758	0,469	0,033-6,643
Heces A/L+D	2,167	8,731	0,752-101,358
Superficie Corral D/L+D	-3,438	0,032	0,001-1,303
Superficie Tolva D/L+D	1,428	4,169	0,474-36,669
Restos heces D/L+D	-1,670	0,188	0,013-2,702
Heces entrada lechones	-2,031	0,131	0,011-1,590

A/L+D: Antes de la limpieza y desinfección. D/L+D: Después de la limpieza y desinfección. B: Parámetro estimado. Exp(B): Estimación de la *Odds Ratio*. I.C: Intervalo de confianza. Modelo de Regresión Logística: Valor *P* del modelo=0,037; R^2 Nagelkerke=47,0%; Prueba de Hosmer y Lemeshow: Sig.=0,947. Número total de aciertos=80,0%.

Por el contrario, factores como la superficie del pasillo, el granjero, la superficie del corral después de la limpieza, restos de heces y el estatus de los lechones el día de entrada en la explotación tienen menos peso en el modelo para la contaminación de *Salmonella* del lote de cerdos al final del periodo de engorde (Tabla 4.9).

Serotipos de *Salmonella* aislados de las muestras tomadas en las explotaciones de cerdos de engorde a lo largo del ciclo productivo

En este estudio, se aislaron un total de 674 cepas de *Salmonella* y se determinaron 34 serotipos diferentes. Los serotipos aislados con mayor frecuencia (92,7% de las muestras positivas) fueron, en orden decreciente: *S. Typhimurium* (27,6%), *S. Rissen* (27,3%), *S. Derby* (19,9%), *S. 4,12:i:-* (6,5%), *S. Goldcoast* (3,7%), *S. Anatum* (2,8%), *S. Muenchen* (1,5%), *S. Wien* (1,3%), *S. Bovismorbificans* y *S. Infantis* (1,0%; Figura 4.5). El resto de serotipos aislados (7,3% de las muestras positivas) fueron: *S. London* (0,9%), *S. Lisboa* (0,6%), *S. Bredeney* (0,5%), *S. Enteritidis* (0,5%), *S. Kapemba* (0,5%), *S. Toulon* (0,5%), *S. Amsterdam* (0,3%), *S. Brikama* (0,3%), *S. Hadar* (0,3%), *S. Mbandaka* (0,3%), *S. Ohio* (0,3%), *S. Orion* (0,3%), *S. Rubislaw* (0,3%), *S. salamae* (0,3%), *S. Senftenberg* (0,3%), *S. 3,10:-:-* (0,2%), *S. Agona* (0,2%), *S. Altona*

(0,2%), *S. diarizonae* (0,2%), *S. Fresno* (0,2%), *S. Gloucester* (0,2%), *S. Idikan* (0,2%), *S. Livingstone* (0,2%) y *S. Tilburg* (0,2%).

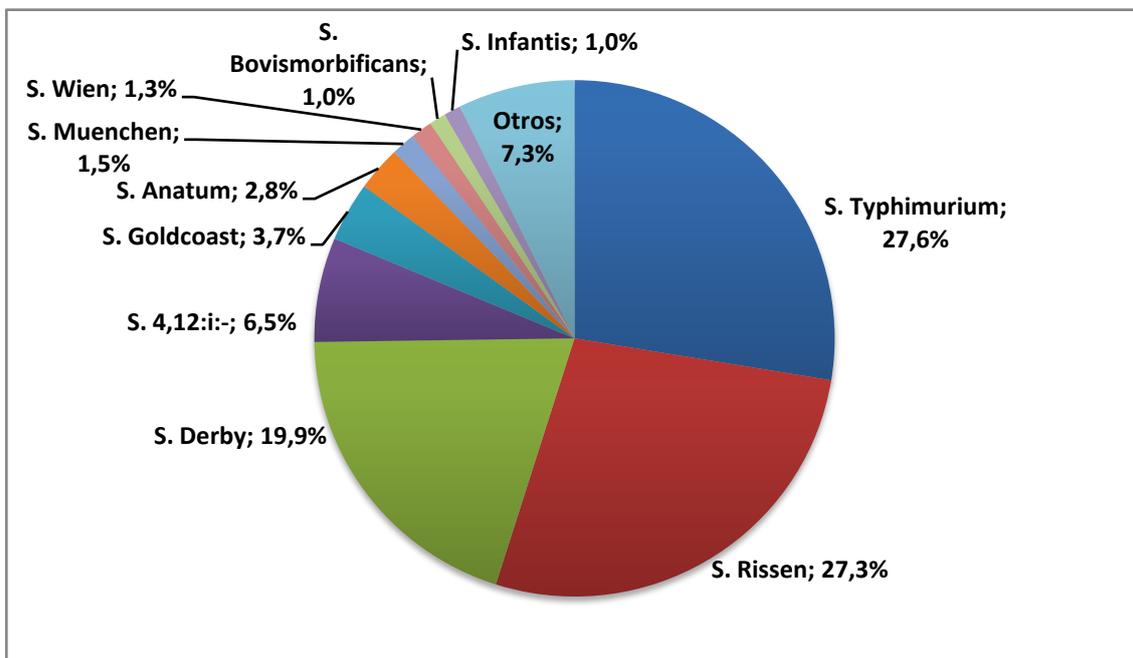


Figura 4.5. Porcentaje de aislamiento de los serotipos más frecuentes en las muestras tomadas de las explotaciones de porcino.

4.2.2. Detección de *Salmonella* en heces a lo largo del periodo de engorde de porcino y tras su transporte a matadero

El primer día de engorde, 25 lotes de cerdos fueron positivos a *Salmonella* y 22 lotes, negativos. Se tomaron un total de 528 muestras de heces (pares de calzas de celulosa) durante el periodo de engorde del cerdo en ambos grupos (lotes de lechones positivos y negativos el día de la entrada en la explotación), de las cuales el 34,9% resultaron positivas a *Salmonella* en alguno de los momentos de muestreo.

La detección de *Salmonella* de acuerdo con el estatus de los lechones el día de entrada en la explotación (positivos o negativos) y el momento de muestreo (mes y medio, tres meses y salida) fue estadísticamente significativo ($P=0,0001$ y $P=0,0008$, respectivamente). Sin embargo, no se observaron diferencias comparando los dos patrones de detección de *Salmonella*, es decir independientemente de si los lotes llegaron infectados de las naves de transición o se infectaron en la explotación el nivel de contaminación al final del ciclo productivo fue el mismo ($P=0,2231$) (Figura 4.6). Como se muestra en la Figura 4.6, en ambos grupos la detección de la bacteria en heces se situó en torno al 45,0% al mes y medio de la entrada de los lechones en la explotación. En el caso de los lotes positivos el día de llegada a la explotación de cebo,

el porcentaje de detección de *Salmonella* al mes y medio y tres meses del periodo de engorde fue el mismo (48,0%). Sin embargo, hubo un aumento del porcentaje de detección de la bacteria hacia el momento de la salida de los cerdos de la explotación (70,8%). En el caso de los lotes negativos el día de entrada, el porcentaje de detección fue aumentando ligeramente durante todo el periodo de engorde hasta alcanzar el máximo en el momento de la salida a matadero de los cerdos (55,0%). En cualquier caso, independientemente del momento de contaminación del lote (en transición o durante el periodo de engorde), al final del periodo de engorde el porcentaje de detección de *Salmonella* en heces fue del 70,8% para los lotes que entraron positivos y 55,0% para los lotes que entraron negativos.

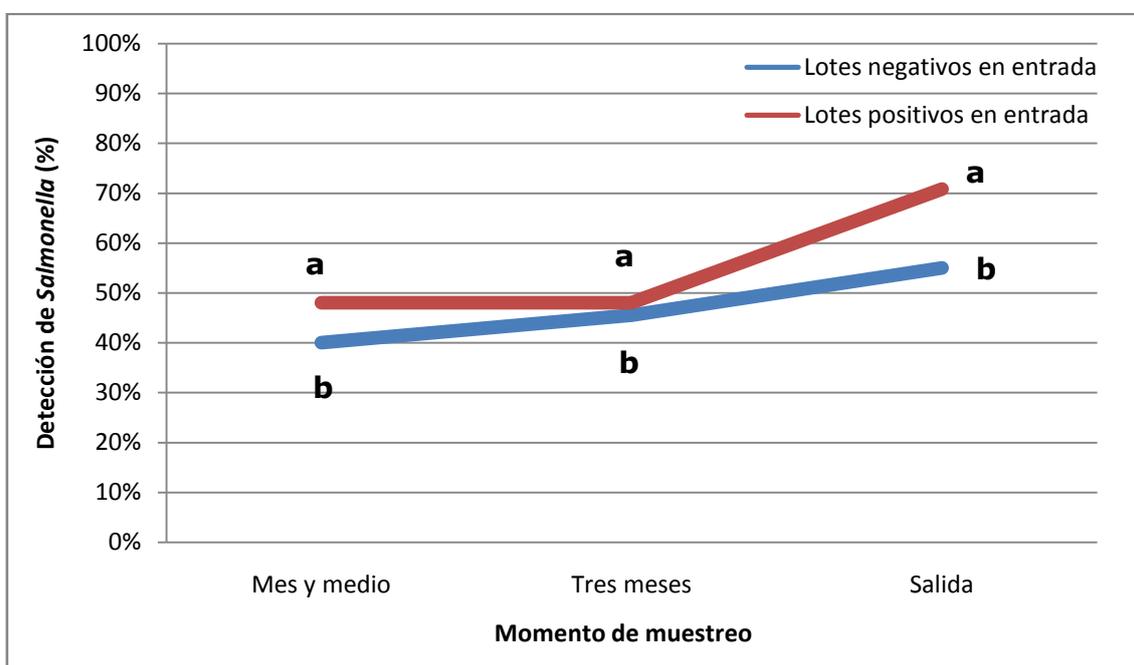


Figura 4.6. Porcentaje de muestras de heces positivas en cada lote durante el periodo de engorde. ^{a,b} Los diferentes superíndices en la línea de lechones positivos a la entrada indican diferencias significativas en cada patrón ($P < 0,05$).

Serotipos de Salmonella aislados de las muestras de heces tomadas en las explotaciones de cerdos a lo largo del periodo de engorde

Durante el periodo de engorde, se aislaron 184 cepas de *Salmonella* de las muestras tomadas de heces y se detectaron 17 serotipos diferentes. Los serotipos más frecuentes (84,8% de las muestras positivas) fueron de mayor a menor: *S. Typhimurium* (26,1%), *S. Rissen* (25,0%), *S. Derby* (20,7%), *S. 4,12:i:-* (7,6%) y *S. Goldcoast* (5,4%; Figura 4.7). El resto de serotipos aislados (15,2% de las muestras positivas) fueron: *S. Anatum* (4,9%), *S. Wien* (2,7%), *S. Kapemba* (1,6%), *S.*

Bovismorbificans (1,1%), *S. Rubislaw* (1,1%), *S. 3,10:i:-* (0,5%), *S. Brikama* (0,5%), *S. Enteritidis* (0,5%), *S. Infantis* (0,5%), *S. Muenchen* (0,5%), *S. salamae* (0,5%) y *S. Tilburg* (0,5%).

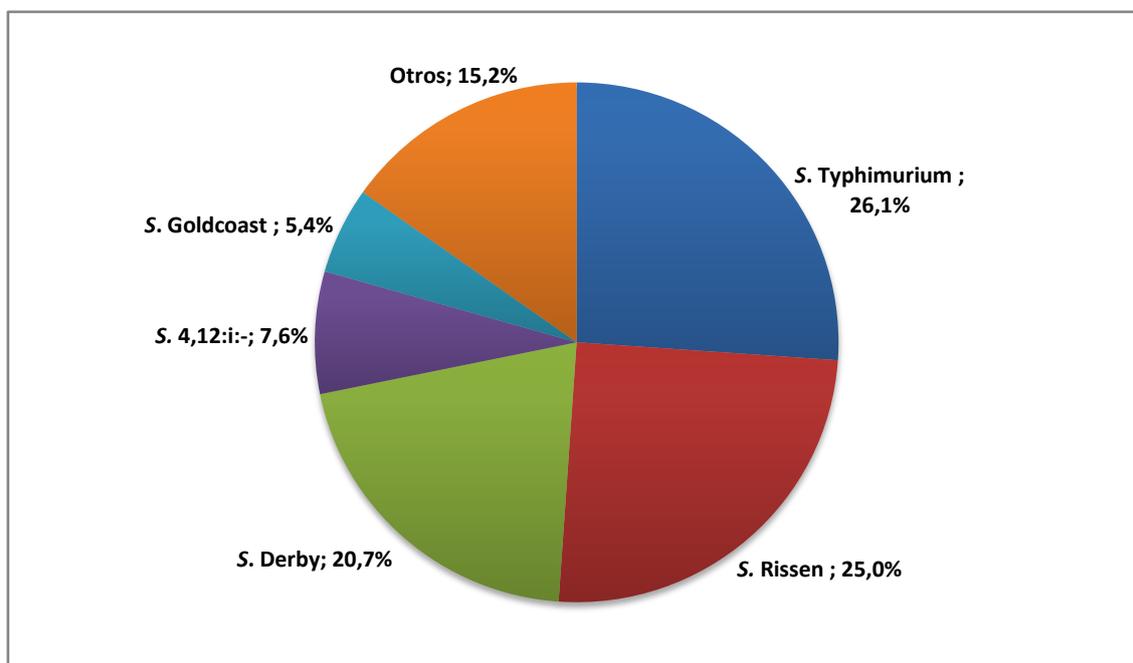


Figura 4.7. Porcentaje de aislamiento de los serotipos más frecuentes en las muestras tomadas de los lotes de cerdos.

En referencia al patrón de los serotipos más prevalentes a lo largo del ciclo productivo, no se encontraron diferencias significativas entre ellos ($P > 0,05$). Como se muestra en la Figura 4.8, prácticamente todos los serotipos se mantuvieron de manera constante durante todo el estudio. *S. Typhimurium* comenzó siendo el serotipo más prevalente (44,0%) y fue disminuyendo hasta alcanzar un valor mínimo a los tres meses (12,8%) y terminar en tercer lugar en el momento de la salida a matadero (16,1%). *S. Rissen* se mantuvo constante en torno al 25,0% a lo largo del periodo de engorde, manteniéndose como el segundo serotipo más prevalente a lo largo del ciclo. *S. Derby* fue aumentando ligeramente hasta alcanzar el máximo (32,3%) en el momento de salida al matadero, siendo el serotipo más prevalente al final del ciclo productivo. *S. 4,12:i:-* no fue detectada al mes y medio de engorde de los cerdos pero volvió a alcanzar el mismo nivel de detección que en la entrada a los tres meses (12,0%), posteriormente volvió a disminuir hacia el momento de la salida (4,8%). *S. Goldcoast* tuvo un pico de detección al mes y medio del periodo de engorde (12,1%), no se detectó a los tres meses y finalmente se volvió a detectar en el momento de salir al matadero (4,8%). El resto de serotipos presentes en la explotación fueron aumentando a lo largo del periodo de engorde hasta alcanzar su máximo a los tres

meses (20,5%), posteriormente disminuyó su porcentaje de detección hacia el momento de la salida a matadero (14,5%).

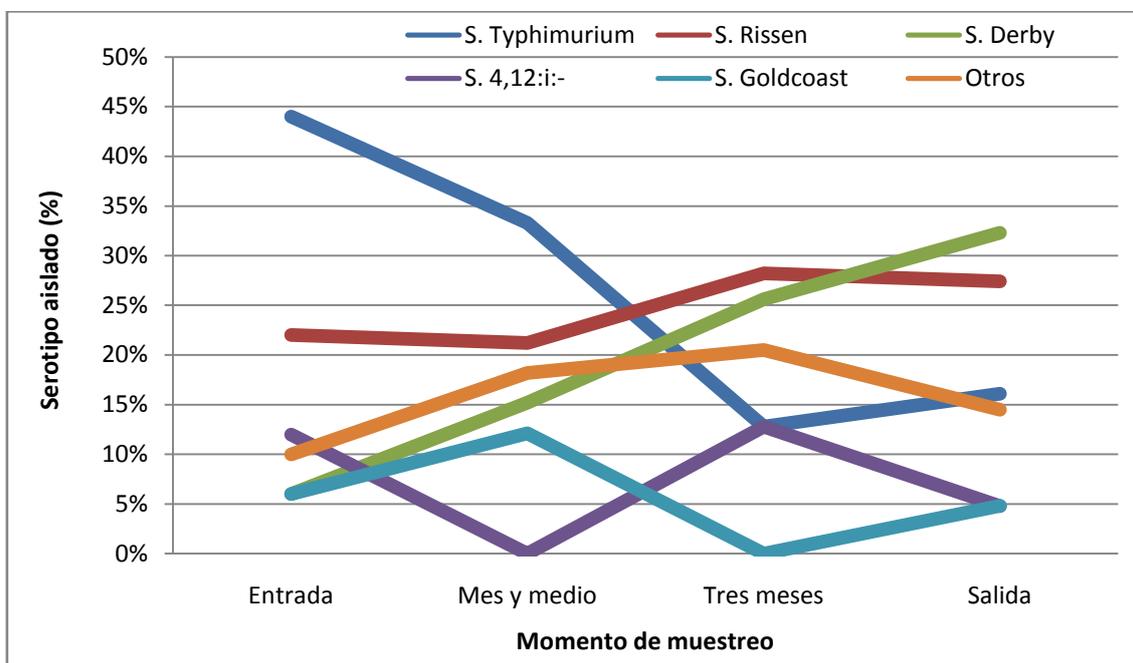


Figura 4.8. Porcentaje de aislamiento de los serotipos más frecuentes de las muestras de heces tomadas de los lotes de cerdos a lo largo del periodo de engorde.

Influencia del transporte a matadero en la detección de Salmonella en heces

El día en que los cerdos fueron llevados al matadero, 18 camiones muestreados estaban contaminados con *Salmonella* a su llegada a la explotación (38,3%). Se observó que la presencia de dichos camiones contaminados durante el transporte de los lotes de cerdos incrementó la detección de *Salmonella* en heces de un 60% a un 80% ($P=0,0333$). Sin embargo, al eliminar los camiones positivos del análisis y valorando sólo aquellos lotes de cerdos transportados en camiones libres de la bacteria, no se encontraron diferencias significativas entre la positividad de los lotes en granja y a su llegada a matadero ($P>0,05$). Es decir, en matadero se detectaron los mismos lotes positivos que en la explotación (58,6% y 69,0%, respectivamente).

El análisis de los diferentes serotipos aislados mostró diferencias significativas entre los patrones de detección de *Salmonella* antes y después del transporte ($P=0,0028$) (Figura 4.9). Antes del transporte, en la explotación, se aislaron ocho serotipos de las muestras de heces de los cerdos (de mayor a menor medida): *S. Derby* (25,0%), *S. Rissen* (25,0%), *S. Typhimurium* (21,4%), *S. 4,12:i:-* (7,1%), *S. Anatum* (7,1%), *S. Goldcoast* (7,1%), *S. Kapemba* (3,6%) y *S. salamae* (3,6%). Después del transporte a

matadero, se identificaron 12 serotipos diferentes en las muestras de heces. *S. Rissen* fue el serotipo aislado con mayor frecuencia, doblando su presencia en heces (de 25,0% a 41,7%). *S. Derby* y *S. Typhimurium* disminuyeron ligeramente su detección en heces (13,9% y 11,1%, respectivamente). *S. Anatum* se mantuvo constante (5,6%). Sin embargo, la presencia de *S. 4,12:i:-* y *S. Goldcoast* disminuyó significativamente (de 7,1% a 2,8%). Los serotipos *S. Kapemba* y *S. salamae* no se aislaron tras el transporte de los animales al matadero. Además, después del transporte se aislaron nuevos serotipos no detectados antes del transporte: *S. Braenderup* (5,6%), *S. Muenchen* (5,6%), *S. Altona* (2,8%), *S. Fresno* (2,8%), *S. Ohio* (2,8%) y *S. Rubislaw* (2,8%).

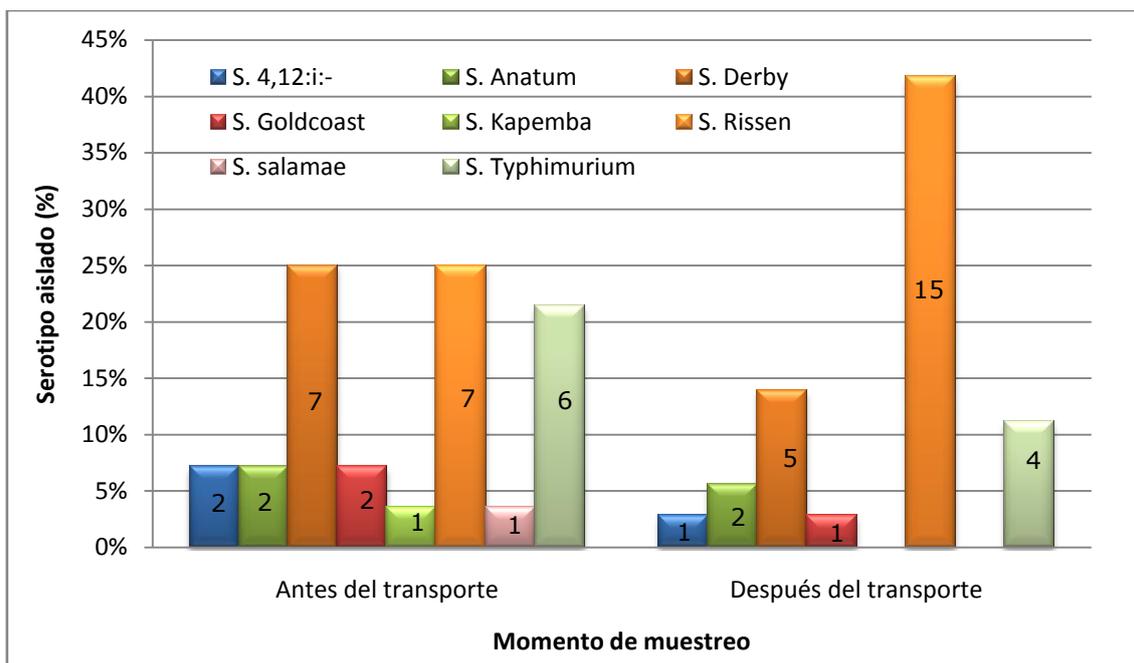


Figura 4.9. Porcentaje de aislamiento de los serotipos de *Salmonella* identificados en las muestras de heces de cerdos en la explotación antes del transporte y tras el transporte a matadero. Los datos presentes en el interior de las barras son el número de serotipos aislados.

De los 18 camiones que fueron positivos a *Salmonella* antes de la carga de los animales, se identificaron 8 serotipos diferentes. El análisis de los diferentes serotipos aislados mostró diferencias significativas entre los patrones de detección de *Salmonella* en el camión antes y después del transporte ($P=0,0014$). Los serotipos más frecuentes fueron: *S. Rissen* (50,0%), *S. Derby* (11,1%) y *S. Typhimurium* (11,1%) (Figura 4.10). El resto de serotipos aislados (27,8% de las muestras positivas) fueron: *S. Altona* (5,6%), *S. Brandenburg* (5,6%), *S. Muenchen* (5,6%), *S. Toulon* (5,6%) y *S. Wien* (5,6%).

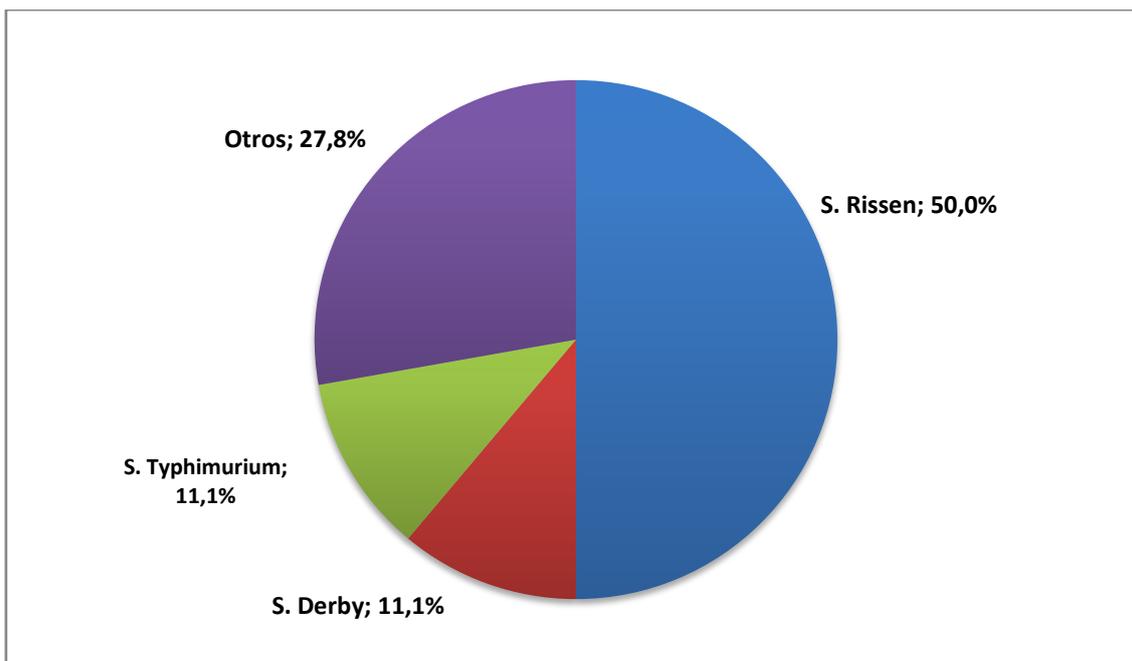


Figura 4.10. Porcentaje de aislamiento de los serotipos más prevalentes en las muestras tomadas de los camiones que transportan a los animales al matadero.

Detección de Salmonella en las instalaciones de los mataderos estudiados

Durante el desarrollo del presente estudio, se muestrearon en 40 ocasiones las instalaciones de 7 mataderos diferentes con el objetivo de determinar si había *Salmonella* en los mataderos de cerdos de la Comunidad Valenciana. Se tomaron un total de 119 muestras en distintos lugares del matadero y el total de muestras positivas fue del 97,5%. Sin embargo, hay que destacar que en el 100% de las visitas al menos una muestra de corral y de pasillo resultó positiva a la bacteria.

Se aislaron 116 cepas de *Salmonella* en las instalaciones del matadero y se identificaron 18 serotipos diferentes. Los serotipos más frecuentes (87,1% de las muestras positivas) fueron, en orden decreciente: *S. Rissen* (36,2%), *S. Typhimurium* (15,5%), *S. Derby* (14,7%), *S. Anatum* (7,8%), *S. Bredeney* (5,2%), *S. Altona* (4,3%) y *S. Amsterdam* (3,5%; Figura 4.11). El resto de serotipos aislados (12,9% de las muestras positivas) fueron: *S. Braenderup* (1,7%), *S. Goldcoast* (1,7%), *S. Meleagridis* (1,7%), *S. Wien* (1,7%), *S. 4,12:i:-* (0,9%), *S. Bovismorbificans* (0,9%), *S. Brandenburg* (0,9%), *S. Brikama* (0,9%), *S. Give* (0,9%), *S. Montevideo* (0,9%) y *S. Ohio* (0,9%).

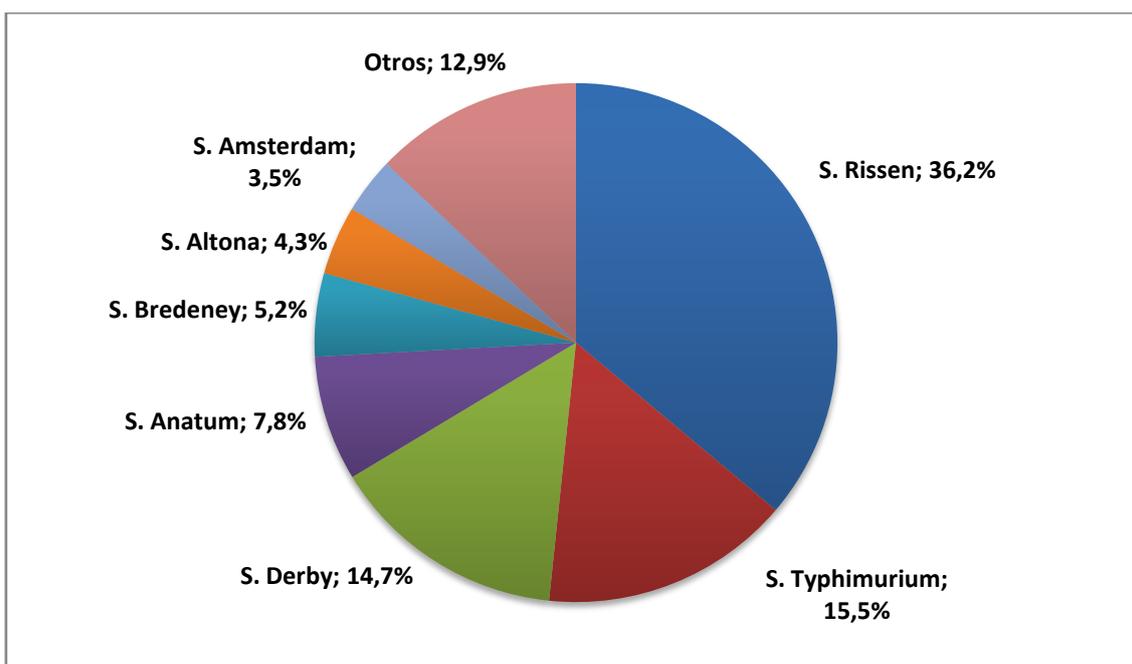


Figura 4.11. Porcentaje de aislamiento de los serotipos más prevalentes en las muestras tomadas de las instalaciones de los mataderos.

4.3. CAPACIDAD DE DESARROLLO DE *BIOFILM* DE LAS CEPAS AISLADAS EN EXPLOTACIONES PORCINAS

De las 89 explotaciones de cerdos muestreadas en el estudio de la limpieza y desinfección, el 22,1% de las muestras fueron positivas a *Salmonella* ($n=1.947$). Se encontraron diferencias significativas en función de la muestra recogida ($P=0,0000$) (Tabla 4.10). Las muestras de heces de los cerdos, la superficie del pasillo, los restos de heces después de la limpieza y desinfección y la superficie de la tolva mostraron una positividad mayor (44,7%, 39,9%, 39,3% y 32,6%, respectivamente), mientras que las muestras de agua y pienso en origen mostraron los porcentajes menores de *Salmonella* (4,0% y 4,1%, respectivamente).

Tabla 4.10. Presencia de *Salmonella* en las muestras obtenidas de diferentes fuentes de contaminación de las explotaciones porcinas.

Muestras	n	<i>Salmonella</i> (%)	E.E.
Agua Depósito	177	4,0 ^a	1,5
Agua Bebedero	177	6,2 ^a	1,8
Pienso Silo	145	4,1 ^a	1,7
Pienso Tolva	127	8,7 ^a	2,5
S. Corral	178	19,7 ^b	3,0
S. Pasillo	178	39,9 ^c	3,7
Polvo	172	20,9 ^{bc}	3,1
Granjero	175	21,7 ^{bc}	3,1
Heces A/L+D	262	44,7 ^c	3,1
Restos de heces D/L+D	89	39,3 ^c	5,2
Material limpieza	89	16,9 ^{ab}	4,0
S. Bebedero	89	21,4 ^{bc}	4,4
S. Tolva	89	32,6 ^c	5,0

E.E: Error estándar. L.A.: Lote anterior. n: Número de muestras tomadas durante el estudio. S: Superficie. *Salmonella* (%): Porcentaje de muestras positivas a *Salmonella*. ^{a-c} Los diferentes superíndices en la columna del porcentaje de muestras positivas a *Salmonella* indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$).

No se encontraron diferencias significativas entre el origen de las cepas y su capacidad de formar *biofilm* ($P > 0,05$) (Tabla 4.11). El 69,0 % de las cepas aisladas mostró la capacidad de producir *biofilm*.

Tabla 4.11. Capacidad de desarrollo de *biofilm* de las cepas de *Salmonella* aisladas en las muestras obtenidas de diferentes factores de riesgo durante el estudio de los lotes de cerdos.

Muestras	n	<i>Biofilm</i> (%)	E.E.
Agua Depósito	6	83,3	16,7
Agua Bebedero	11	63,6	15,2
Pienso Silo	6	66,7	21,1
Pienso Tolva	11	63,6	15,2
S. Corral	35	60,0	8,4
S. Pasillo	71	70,4	5,5
Polvo	36	66,7	8,0
Granjero	38	76,3	7,0
Heces L.A	117	65,8	4,4
Restos de heces D/L+D	35	71,4	7,8
Material limpieza	15	73,3	11,8
S. Bebedero	19	73,7	10,4
S. Tolva	29	75,9	8,1

Biofilm (%): Porcentaje de cepas capaces de formar *biofilm*. E.E: Error estándar. L.A.: Lote anterior. n: Número de muestras positivas tomadas durante el estudio.

En nuestro estudio, se aislaron 28 serotipos diferentes de las muestras tomadas de las explotaciones porcinas antes y después de la limpieza y desinfección. Los serotipos aislados con mayor frecuencia fueron *S. Rissen* (27,9%), *S. Typhimurium*

(24,7%) y *S. Derby* (24,2%). El estudio de los serotipos que tenían mayor capacidad de producir *biofilm* mostró diferencias significativas ($P=0,0000$) (Figura 4.12). *S. Rissen* (86,7%) fue el serotipo con mayor capacidad de producir *biofilm*, seguido de *S. Typhimurium* (76,4%) y, posteriormente, *S. Derby* (36,5%).

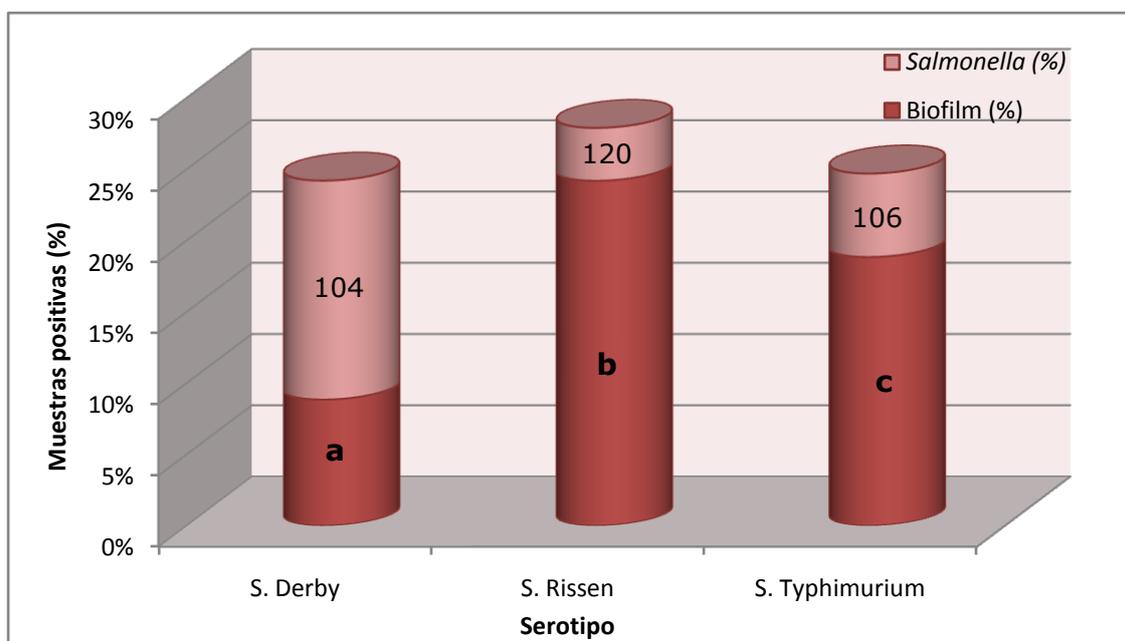


Figura 4.12. Porcentaje de la capacidad de desarrollo de *biofilm* de los serotipos de *Salmonella* aislados con mayor frecuencia de las muestras tomadas en las instalaciones de las explotaciones porcinas. ^{a-c} Los diferentes superíndices en la columna del porcentaje de muestras positivas a *Biofilm* indican diferencias significativas ($P<0,05$). Los datos presentes en el interior de las barras son el número de serotipos aislados.

Estudio de la capacidad de resistencia de las cepas de Salmonella capaces de producir biofilm contra los desinfectantes

El estudio de la protección del *biofilm* contra los desinfectantes más frecuentes utilizados a nivel de campo mostró diferencias significativas entre la capacidad y no capacidad de formación de *biofilm* de las cepas ($P=0,0263$). Antes de la limpieza y desinfección, el 64,8% de las cepas fue capaz de producir *biofilm* mientras que después de la limpieza y desinfección lo fue el 74,9% (Figura 4.13). Es decir, sobrevivieron prioritariamente las cepas capaces de producir *biofilm*.

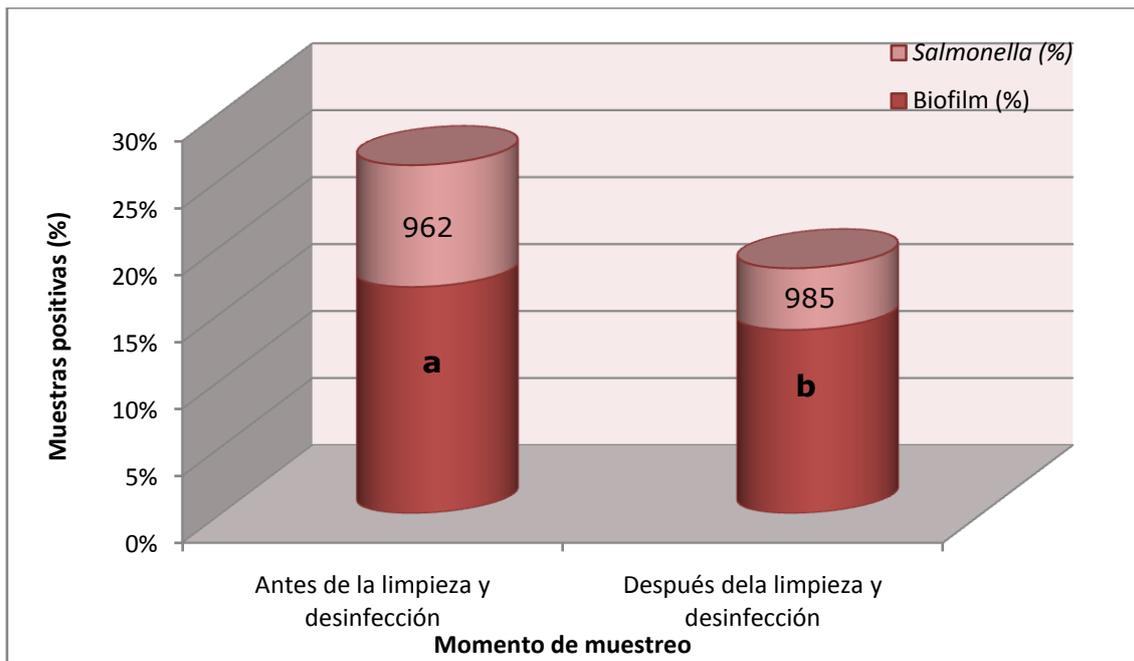


Figura 4.13. Porcentaje de la capacidad de desarrollo de *biofilm* de las cepas de *Salmonella* aisladas de las muestras tomadas en las instalaciones de las explotaciones porcinas. ^{a-b} Los diferentes superíndices en la columna del porcentaje de muestras positivas a *Biofilm* indican diferencias significativas ($P < 0,05$). Los números que aparecen dentro de cada columna indican el número de muestras analizadas.

Los serotipos más prevalentes tras la limpieza y desinfección, y por tanto, más resistentes a los desinfectantes fueron (de mayor a menor medida): *S. Rissen* (35,0%), *S. Derby* (22,2%) y *S. Typhimurium* (21,1%).

Los serotipos con mayor capacidad de producir *biofilm* fueron (de mayor a menor medida): *S. Rissen* (87,3%), *S. Typhimurium* (86,8%) y *S. Derby* (42,5%). Se encontraron diferencias significativas entre estos tres serotipos en cuanto a la capacidad de producir *biofilm* ($P = 0,0000$) (Figura 4.14).

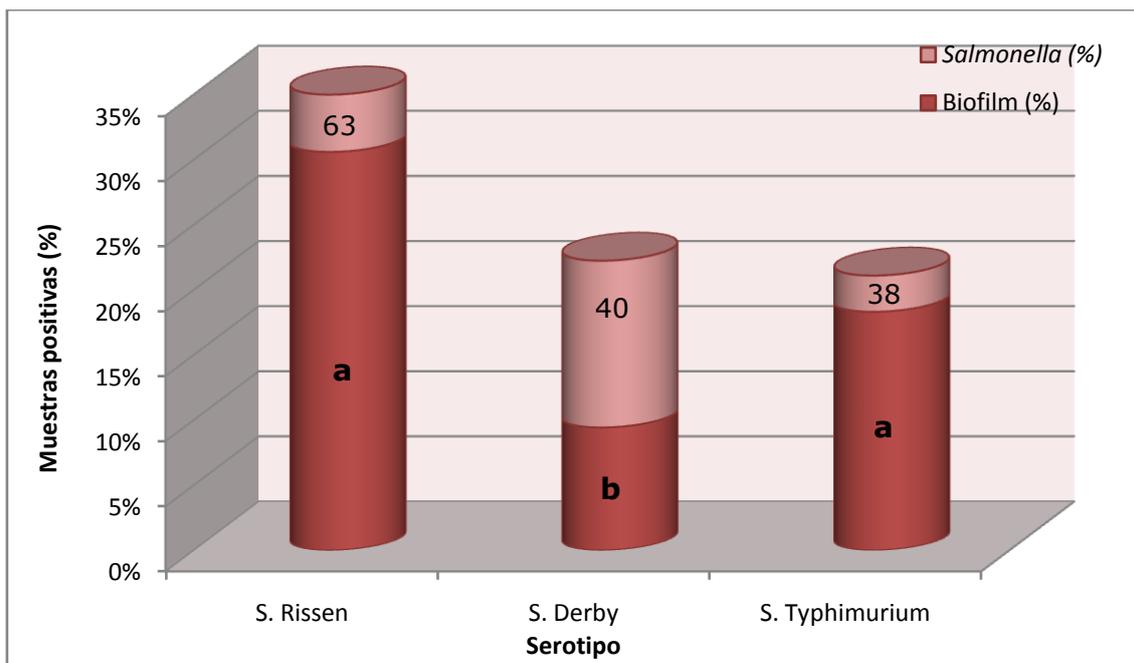


Figura 4.14. Porcentaje de supervivencia de los serotipos de *Salmonella* aislados con mayor frecuencia de las muestras tomadas en las instalaciones de las explotaciones porcinas en estudio después de la limpieza y desinfección. ^{a,b} Los diferentes superíndices en las columnas del porcentaje de muestras positivas a *Biofilm* indican diferencias significativas ($P<0,05$). Los datos presentes en el interior de las barras son el número de serotipos aislados.

El desinfectante más efectivo contra *Salmonella* en condiciones de campo fue el compuesto formado por formaldehído + glutaraldehído ($P=0,0000$) (Figura 4.15), tras su utilización sólo el 9,1% de las muestras permanecieron positivas. Esto coincide con el desinfectante más efectivo contra las cepas de *Salmonella* con capacidad para producir *biofilm* ($P=0,0123$), que tras su utilización sólo el 40,0% de las muestras permanecieron positivas. El agente activo menos eficaz para las cepas de *Salmonella* fue el derivado fenólico, permaneciendo positivas el 25,0% de las muestras recogidas tras su utilización. En cambio, en el caso de las cepas de *Salmonella* capaces de producir *biofilm*, el agente activo menos eficaz fue el glutaraldehído, sobreviviendo el 94,7% de las cepas.

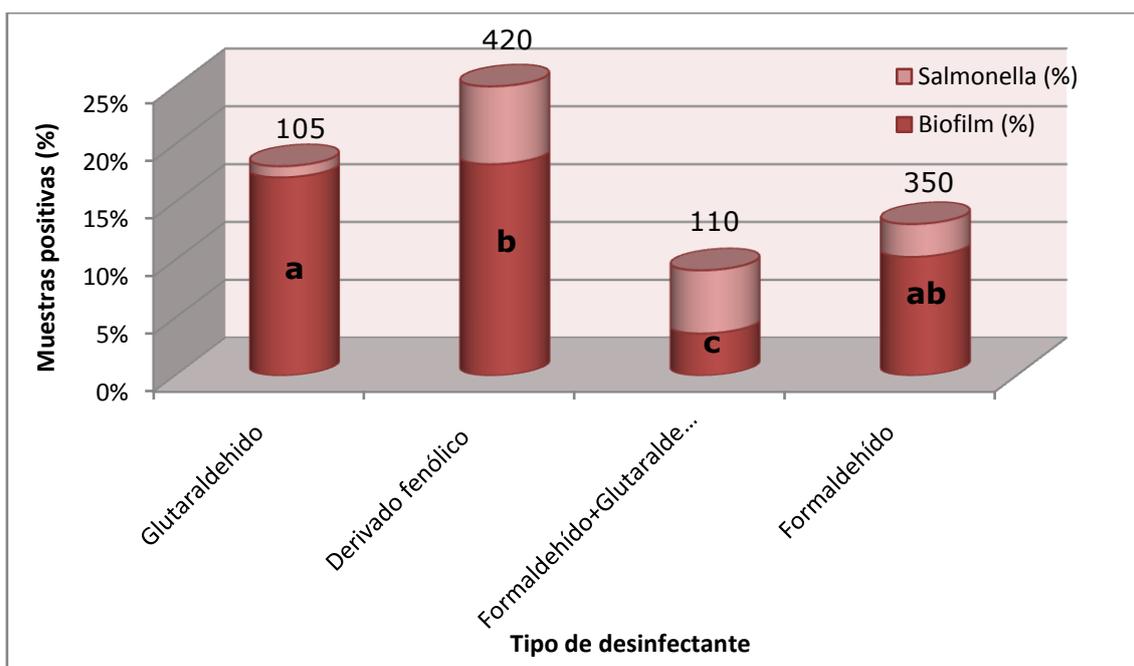


Figura 4.15. Porcentaje de supervivencia de las cepas de *Salmonella* aisladas después de la limpieza y desinfección según el desinfectante utilizado en la explotación en estudio. ^{a-c} Los diferentes superíndices en las columnas del porcentaje de muestras positivas a *Biofilm* indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$). Los números que aparecen sobre cada columna indican el número de muestras analizadas.

5. DISCUSIÓN

5.1. INTRODUCCIÓN

La infección de *Salmonella* en los cerdos suele ser subclínica, aunque algunos animales pueden mostrar una serie de signos clínicos que varían desde una suave diarrea hasta una septicemia aguda y la muerte (EFSA, 2008). Por este motivo, la mayor importancia de la infección de *Salmonella* en los cerdos radica en su posible transmisión a través de la cadena alimentaria dando lugar a la infección y enfermedad de las personas (EFSA, 2008). Existe una clara evidencia de que los cerdos infectados con *Salmonella* así como sus productos derivados son una fuente importante de salmonelosis en humanos y representan una amenaza potencial para los consumidores, aunque la proporción que le corresponde para la población de la UE aún no ha sido estimada (EFSA, 2013).

Beloil *et al.* (2004b) determinaron en un estudio realizado en Francia que el estatus de *Salmonella* de los cerdos de engorde analizado en la granja jugaba un papel crucial en la contaminación cecal durante el sacrificio. Los resultados de su estudio enfatizaron la necesidad de establecer medidas de control en las explotaciones para reducir la infección y diseminación de la bacteria mediante la identificación y control de los factores de riesgo que introducen y/o mantienen *Salmonella* en las instalaciones. En España, aproximadamente el 11,0% de los brotes de *Salmonella* en humana están relacionados con el consumo de carne de cerdo (MARM, 2008). El Paquete de Higiene y el Reglamento de la Comisión Europea 2160/2003 requiere una información fluida desde la granja al matadero para aumentar la protección de los consumidores en su propuesta “de la granja al tenedor”. Esta obligación concierne especialmente a los agentes zoonóticos de origen alimentario transmitidos a los humanos mediante el consumo de cerdo, puesto que hoy en día la carne de cerdo es la que más se consume en Europa (Fosse *et al.*, 2009). Por tanto, para prevenir la contaminación de *Salmonella* de productos de origen porcino se requiere un conocimiento detallado de los factores de riesgo más importantes asociados a su presencia en el sistema productivo (EFSA, 2008).

5.2. ANÁLISIS DE LA ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA

En el análisis de las encuestas epidemiológicas realizadas en las 47 explotaciones monitorizadas a lo largo del periodo de engorde de los cerdos hemos podido encontrar ciertos factores relacionados con el estatus de contaminación en heces del lote a la salida de la explotación, como son el número de animales alojados por grupo, la disposición de un circuito secundario para agua medicada y el periodo mínimo de vacío sanitario. Sin embargo, el *P*-valor para cada uno de ellos no permite tomar la decisión con total seguridad.

Además, hemos podido encontrar otros factores relacionados con el estatus de contaminación ambiental de la explotación al final del periodo de engorde, como son la distancia al núcleo urbano, las visitas a otras granjas, la entrada del camión del pienso dentro del vallado sanitario, el promedio de reposición del pienso en los silos de la explotación, el uso de acidificantes en el pienso, el tipo de desinfectante utilizado y el diagnóstico de las causas de muerte de los cerdos. Sin embargo, los factores que podemos afirmar con mayor seguridad son el tipo de desinfectante utilizado y el diagnóstico de las causas de muerte de los animales puesto que tienen un *P*-valor menor (0,0028 y 0,0059, respectivamente).

Según el Real Decreto 324/2000, las explotaciones porcinas de nueva construcción y las ampliaciones de las ya existentes deben guardar una distancia mínima entre las explotaciones de la misma especie, así como otros establecimientos o instalaciones que puedan constituir fuentes de contagio. Así mismo, se recomienda que la explotación se mantenga alejada y aislada en la medida de lo posible de cualquier asentamiento humano (MAPA, 2005; CAPA, 2006). En nuestro estudio podemos destacar que no hemos encontrado relación entre las distancias de las explotaciones al núcleo urbano y otras explotaciones de cerdos u otras especies animales con el estatus de contaminación en heces del lote a la salida de la explotación ($P \geq 0,05$). Benschop *et al.* (2008) no encontraron asociación entre la densidad de granjas y de cerdos con el riesgo de *Salmonella* a nivel de explotación. Sin embargo, en este estudio sí hemos encontrado relación entre la distancia al núcleo urbano y el estatus de contaminación ambiental de la explotación al final del engorde ($P=0,0283$).

Muchos autores consideran las medidas de bioseguridad de la explotación esenciales para prevenir la introducción y diseminación de *Salmonella* en la explotación (Funk y Gebreyes, 2004; Lo Fo Wong *et al.*, 2004; Fosse *et al.*, 2009). Estas medidas incluyen controlar el acceso a la explotación de trabajadores, visitas y vehículos, mantener unos requerimientos mínimos de higiene en el personal, la maquinaria y las instalaciones, llevar a cabo un sistema de producción todo dentro/todo fuera y un control de vectores biológicos como roedores, gatos y perros. Baptista *et al.* (2010a) determinaron que explotaciones con una baja bioseguridad tenían una mayor probabilidad de estar contaminadas por *Salmonella* comparado con explotaciones con una buena bioseguridad. Así mismo, Beloeil *et al.* (2007) determinaron que llevar ropa exclusiva de la explotación para entrar en las instalaciones y disponer de un vallado perimetral eran otras dos medidas de bioseguridad a tener en cuenta. En nuestro estudio el 95,7% de las explotaciones restringían las visitas, mantenían ciertos requerimientos mínimos de higiene como lavarse las manos regularmente (93,62%), disponer de ropa y calzado exclusivo para la explotación que se limpiaba regularmente (100%), llevaban a cabo un sistema de producción todo dentro/todo fuera (100%) y un protocolo de desratización activo (85,11%). Además, el 74,47% de las explotaciones disponía de un vallado perimetral

completo. Todos estos factores no parecieron estar relacionados con el estatus de contaminación del lote en heces o en el estatus de contaminación de la explotación a la salida. En cambio, otros factores relacionados con la bioseguridad de la explotación como la entrada del camión del pienso dentro del vallado y la visita a otras granjas con asiduidad sí estuvieron relacionados con el estatus de contaminación de la explotación a la salida de los cerdos ($P=0,0275$ y $P=0,0405$, respectivamente). El 64,9% de las explotaciones en las cuales entraba el camión de pienso dentro del vallado perimetral o incluso no tenían un vallado perimetral completo resultaron positivas al final del periodo de engorde, recalcando así la necesidad de evitar al máximo la entrada de cualquier vehículo en los alrededores de las naves (Baptista *et al.*, 2010a). La visita a otras granjas con asiduidad por parte de los granjeros supuso que el 92,9% de sus explotaciones estuvieran contaminadas al finalizar el engorde, convirtiéndose ellos mismos en un posible vector de diseminación de la bacteria e introduciéndola en su propia explotación. Bahnson *et al.* (2007) determinaron en su estudio que permitir la entrada de visitas que han tenido contacto con otras explotaciones en el mismo día era un factor de riesgo a tener en cuenta (Fosse *et al.*, 2009). En cualquier caso, autores como Baptista *et al.* (2010a) sugieren que es necesario aplicar simultáneamente las múltiples medidas de bioseguridad para prevenir la introducción y diseminación de *Salmonella*.

En nuestro estudio, el tamaño de la explotación no pareció influir en el estatus de contaminación en heces a la salida de la explotación ni en el estatus de contaminación ambiental, en contra de lo que han demostrado autores como Baggesen *et al.* (1996), Kranker *et al.* (2001), Mejía *et al.* (2006), Bahnson *et al.* (2007), García-Feliz *et al.* (2009) o Benschop *et al.* (2010), quizás debido a que el 83,0% de las explotaciones estudiadas se podían clasificar como pequeñas (censo <2000 cerdos) y el 17,0%, como medianas (censo entre 2000 y 5000 cerdos), habiendo poca variabilidad. En cambio, el número de animales por grupo sí influyó en el estatus de contaminación en heces del lote a la salida de la explotación ($P=0,0271$), habiendo un mayor porcentaje de lotes positivos (90,0%) entre los que había un número igual o mayor a 15 animales por grupo. Esto mismo demostraron Carstensen y Christensen (1998) en un estudio realizado en Dinamarca y Beloeil *et al.* (2007), en Francia, donde el aumento en el tamaño del grupo fue asociado con un ligero aumento en el riesgo de infección y consecuentemente seroconversión. En un estudio realizado en Portugal, Correia-Gomes *et al.* (2013) demostraron que en explotaciones de fase I el riesgo de *Salmonella* se multiplicaba por dos si el número de cerdas por corral era superior a 10.

En referencia a las instalaciones de las explotaciones sometidas a estudio, no encontramos ninguna relación con el estatus del lote al final del periodo de engorde ($P\geq 0,05$), del mismo modo que Rajic *et al.* (2007) o García-Feliz *et al.* (2009). En cambio, hay estudios en los que se ha encontrado diferencias significativas en cuanto

al tipo de suelo (sin *slat* y *slat* parcial o total; Nollet *et al.*, 2004; Rossel *et al.*, 2006), la separación entre corrales (muro o barrotes; Lo Fo Wong *et al.*, 2004) o el diseño de los bebederos (cazoleta o chupete; Bahnson *et al.*, 2006).

El 100% de nuestras explotaciones trabajaba por lotes, mediante el sistema todo dentro/todo fuera y los lechones procedían de una única explotación en el 87,2% de los casos. Autores como Lo Fo Wong *et al.* (2004) demostraron la existencia de un mayor riesgo de infección y diseminación por *Salmonella* en la producción continua que en el sistema todo dentro/todo fuera, así como en explotaciones donde los lechones procedían de más de 3 explotaciones.

Respecto a la alimentación, el pienso es un factor que se ha estudiado ampliamente (Van Winsen *et al.*, 2000; Beloeil *et al.*, 2004a; Lo Fo Wong *et al.*, 2004; Bahnson *et al.*, 2006; Creus, 2006, Farzan *et al.*, 2006; Rossel *et al.*, 2006; Baptista *et al.*, 2010a): el uso de acidificantes, el pienso líquido fermentado, la alimentación seca o húmeda, el pienso granulado o en harina, etc. Rossel *et al.* (2006) observaron en su estudio que no usar acidificantes en el pienso o el agua aumentaba el riesgo de excreción de *Salmonella* en las explotaciones porcinas (Lo Fo Wong *et al.*, 2002, Van Winsen *et al.*, 2002), sin embargo en nuestro estudio las explotaciones que utilizaban pienso con acidificantes tuvieron un porcentaje significativamente mayor de positividad (88,0%) al finalizar el periodo de engorde que las explotaciones donde el pienso no contenía acidificantes (52,4%). Todo parece indicar que el resultado depende de la dosis de ácidos y del nivel de infección (Creus, 2006; Zheng *et al.*, 2007). En nuestras explotaciones no obtuvimos ninguna relación entre el tipo de pienso y/o la alimentación seca o húmeda con el estatus del lote al finalizar el periodo de engorde ($P \geq 0,05$) pero sí encontramos relación entre el periodo de reposición del pienso y el estatus de contaminación ambiental de la explotación a la salida de los cerdos para su sacrificio ($P = 0,0257$). Obtuvimos un mayor porcentaje de explotaciones positivas (81,8%) cuando se reponía el pienso semanalmente o incluso antes que cuando se tardaba más de 7 días en reponer (50,0%). No se ha encontrado en la bibliografía referencia a este punto en concreto pero sí que hay estudios en los que se demuestra que los cambios frecuentes de pienso durante el crecimiento de los cerdos aumenta el riesgo de *Salmonella* (Beloeil *et al.*, 2004a), aspecto que no hemos analizado en este estudio y deberíamos tener en cuenta para posteriores análisis. Además, la entrada del camión de pienso con mayor frecuencia en la explotación podría contribuir a aumentar aún más el riesgo (MAPA, 2005). El agua de bebida procedía de red general en el 59,6% de nuestras explotaciones y de pozo en el 38,3% y se verificaba su potabilidad cada crianza en el 40,43% de las explotaciones, sólo el 19,15% reconocían no verificarla en ningún momento. No hemos encontrado ninguna relación estadísticamente significativa entre estos hechos y el estatus de contaminación del lote al final del engorde ($P \geq 0,05$) pero Baptista *et al.*, (2010a) consideran que verificar la potabilidad del agua es una medida de bioseguridad a tener en cuenta en la explotación. Además,

Ahmed *et al.* (2009) demostraron en su estudio que el agua tanto de pozo como de red puede contaminarse con *Salmonella* y otras bacterias, además de químicos y metales pesados, poniendo en riesgo la salud de los cerdos.

En la encuesta epidemiológica se realizaron, además, cuestiones referentes a las pautas de manejo que llevaban a cabo los granjeros, algunas de las cuales forman parte de las medidas de bioseguridad de la propia explotación como son la higiene del personal que tiene contacto con los animales, comentado anteriormente. Además, se hicieron preguntas referentes a los animales como la existencia de lazareto para animales retrasados o enfermos, si existía una corriente única de animales o si se disponía de circuito secundario para agua medicada. El 97,87% de las explotaciones disponía de lazareto donde los animales permanecían hasta el final del engorde en el 70,21%, el 100% de los ganaderos afirmaban seguir una corriente única de movimiento entre lotes y el 36,17% disponía de un circuito secundario para agua medicada. Rossel *et al.* (2006) comprobaron que mezclar a los animales durante el periodo de engorde aumentaba el riesgo de *Salmonella*, en nuestro caso no encontramos relación con el estatus del lote al final del engorde ($P \geq 0,05$). Sí encontramos relación entre la disposición de un circuito secundario para agua medicada y el estatus de contaminación en heces del lote al finalizar el periodo de engorde ($P = 0,0166$). El 82,4% de las explotaciones que disponían de un circuito secundario estuvieron contaminadas al finalizar el periodo, esto podría ser debido a una falta de limpieza y desinfección del depósito y las tuberías tras su utilización, contaminándose con *Salmonella* y otras bacterias (CAPA, 2006; Ahmed *et al.*, 2009). Referente a la limpieza y desinfección de las explotaciones se han realizado numerosos estudios que hemos ido citando en varias ocasiones y que profundizaremos en apartados posteriores. En este apartado trataremos dos aspectos que, tras analizar las encuestas epidemiológicas, pudimos encontrar relacionados con el estatus de contaminación del lote a la salida de la explotación, el periodo de vacío sanitario y el desinfectante utilizado ($P = 0,0111$ y $P = 0,0028$, respectivamente). Se recomienda que el periodo de vacío sanitario en las explotaciones porcinas sea de entre 7 y 15 días (MAPA, 2005). El 65,1% de los lotes en cuya explotación se realizó un periodo de vacío sanitario de 7 días o superior ($n = 43$) fueron positivos en heces al finalizar el engorde, habiendo sólo 4 explotaciones cuyo periodo de vacío sanitario fue menor y que resultaron negativos en el 100%. Estos datos no resultan de gran interés puesto que hay mucha variabilidad entre el número de explotaciones que hay en cada grupo. Además, autores como Beloeil *et al.* (2004a) encontraron como factor de riesgo periodos de vacío sanitario inferiores a 3 días y en nuestro caso no ha habido ninguna explotación cuyo periodo de vacío sanitario fuera inferior a 3 días. El desinfectante utilizado fue un factor que resultó estar relacionado con el estatus de contaminación ambiental a la salida de los cerdos de la explotación, siendo menos efectivos o duraderos los desinfectantes cuyo principio activo es el glutaraldehído o derivados fenólicos que tuvieron un porcentaje mayor de explotaciones positivas al final del engorde (100% y 94,7%, respectivamente). Esto

coincide con los resultados obtenidos en la evaluación de la limpieza y desinfección y en el estudio de las cepas capaces de producir *biofilm*. El desinfectante menos efectivo fue el derivado fenólico (el 86,8% de las explotaciones de cerdos y el 25,0% de las muestras permanecieron positivas tras su uso) y el menos efectivo frente a las cepas de *Salmonella* capaces de producir *biofilm* fue el glutaraldehído (el 94,7% de las cepas sobrevivieron tras su utilización). Para finalizar, las últimas preguntas del apartado de manejo estuvieron relacionadas con el control de roedores y plagas. En la bibliografía aparecen los roedores, las moscas, los escarabajos, las aves silvestres y los animales de compañía como vectores potenciales de introducción y diseminación de *Salmonella* en las explotaciones de cerdos (Letellier *et al.*, 1999; Barber *et al.*, 2002; Creus *et al.*, 2004^a; Mejía *et al.*, 2006; Cardinale *et al.*, 2010; Baptista *et al.*, 2010a). En el 85,11% de las explotaciones sometidas a estudio se llevaba a cabo un protocolo de desratización activo, el 80,85% disponía de protección antiaves en ventanas y el 65,96% tenía otros animales en la explotación como perros, gatos o incluso caballos, gallinas y alguna cabra. En cualquier caso, no encontramos relación entre ninguno de estos aspectos y el estatus de contaminación del lote al final del periodo ($P \geq 0,05$). Sin embargo, en un estudio realizado en Alemania, Gotter *et al.* (2012) identificaron como factor de riesgo que los cerdos tuvieran contacto con otros animales.

Por último, referente al programa sanitario, obtuvimos que el 100% de las explotaciones realizaba las vacunas pertinentes a los animales, diagnosticaban las patologías (85,11%), aunque en ningún caso se tenía constancia de haber padecido algún brote de salmonelosis anteriormente, y el estado de los animales era bueno en la mayoría de las ocasiones (85,11%). En la bibliografía, se han descrito las enfermedades recurrentes como factores de riesgo de la presencia de *Salmonella* en las explotaciones (Fablet *et al.*, 2003; Beloeil *et al.*, 2004a; Van der Wolf *et al.*, 2001a). En este sentido, el factor que pudimos relacionar significativamente con el estado de contaminación ambiental de la explotación a la salida de los cerdos fue el diagnóstico de las causas de muerte de los animales ($P=0,0059$). El 74,47% de las explotaciones en las que no se diagnosticaban las causas de muerte resultaron positivas al finalizar el periodo de engorde frente al 25,53% de las explotaciones en las que sí se diagnosticaban, sugiriendo que se tenía un mayor conocimiento del estado de los animales y se podían prevenir y tratar mejor las enfermedades.

En conclusión, podemos decir que tras analizar las encuestas epidemiológicas realizadas en 47 explotaciones de la Comunidad Valenciana se han podido describir diferentes aspectos relacionados con las características generales de la explotación, la bioseguridad, las instalaciones, la producción, la alimentación, el manejo y el programa sanitario. Además, se han encontrado relaciones significativas entre el número de animales alojados por grupo, la disposición de un circuito secundario para agua medicada y el periodo mínimo de vacío sanitario con el estatus de contaminación en heces del lote a la salida de la explotación. También se han encontrado relaciones

significativas entre la distancia al núcleo urbano, las visitas a otras granjas, la entrada del camión del pienso dentro del vallado sanitario, el promedio de reposición del pienso en los silos de la explotación, el uso de acidificantes en el pienso, el tipo de desinfectante utilizado y el diagnóstico de las causas de muerte de los cerdos con el estatus de contaminación ambiental de la explotación al final del periodo de engorde. Sin embargo, los factores que podemos afirmar con mayor seguridad son el tipo de desinfectante utilizado y el diagnóstico de las causas de muerte de los animales.

5.3. DETECCIÓN DE *SALMONELLA* EN LAS EXPLOTACIONES PORCINAS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

En el presente estudio, se ha podido comprobar el efecto de la estacionalidad a lo largo del año en la excreción de *Salmonella*, del mismo modo que habían descrito previamente otros autores como Smith *et al.* (2010). En este caso, se observó mayor porcentaje de muestras positivas en el año 2008 (24,4%) que en el 2009 (19,6%), quizás debido a que el año 2009 fue mucho más caluroso (AEMET, 2013). En cuanto a las estaciones, se observó el mayor porcentaje en otoño (26,3%), cuando el clima es más frío y húmedo, mientras que el menor porcentaje se observó en verano (16,6%), siendo el clima más caluroso y seco.

5.3.1. Contaminación ambiental de *Salmonella* en las explotaciones porcinas durante el periodo de engorde

Como hemos podido observar en los resultados, *Salmonella* persiste en la explotación porcina tras la limpieza y desinfección. El hecho de que la bacteria no se elimine de las instalaciones entre los diferentes lotes de cerdos supone una recirculación de la misma entre el ambiente y los animales (Beloil *et al.*, 2004a; Rajic *et al.*, 2005). *Salmonella* se transmite del ambiente a los lechones que entran en la explotación con aproximadamente 2 meses de edad y de éstos pasa, a través de las heces, de nuevo al ambiente.

Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que los procedimientos de limpieza y desinfección aplicados por los granjeros en la Comunidad Valenciana fueron insuficientes para eliminar *Salmonella* de las explotaciones de cerdos (Mannion *et al.*, 2007; Cardinale *et al.*, 2010) puesto que el 70,8% de las explotaciones permanecían positivas en alguna de las muestras tomadas tras la limpieza y desinfección. Por este motivo, el estatus de la explotación antes de la limpieza y desinfección ha sido determinado como un importante factor de riesgo relacionado con la contaminación del lote de cerdos al final del periodo de engorde, en concreto, las muestras de heces

del lote anterior y la superficie del corral antes de la limpieza, del mismo modo que Van der Wolf *et al.* (2001a), Beloeil *et al.* (2004a) y Baptista *et al.* (2010a).

Se conoce muy poco sobre la eficacia de los procedimientos utilizados en la limpieza y desinfección de las explotaciones de cerdos comerciales a nivel mundial (Mannion *et al.*, 2007). Existen varias hipótesis relacionadas con la alta persistencia de *Salmonella* después de la limpieza y desinfección (Funk y Gebreyes, 2004; Lo Fo Wong *et al.*, 2004; Fosse *et al.*, 2009; Baptista *et al.*, 2010a) como la falta de publicaciones de carácter científico sobre la desinfección en el sector agrícola (Baptista *et al.*, 2010a), la ausencia de métodos oficiales para probar la eficacia de los desinfectantes (Lasa, 2004), una dureza y temperatura incorrectas del agua de limpieza (Leriche y Carpentier, 1995; Taylor y Holah, 1996), la ausencia de detergente durante el proceso de limpieza y desinfección, que puede reducir significativamente la eficacia de la desinfección (Baptista *et al.*, 2010a), la contaminación residual de las naves tras la limpieza y desinfección (Funk *et al.*, 2001ab; Beloeil *et al.*, 2004a; Baptista *et al.*, 2010a) y/o la capacidad de desarrollo de *biofilm* por parte de las cepas de *Salmonella* (Marín y Lainez, 2009). Debido a esto, es importante supervisar que no haya ningún error durante el procedimiento para asegurar una adecuada limpieza y desinfección (Davies, R.H. *et al.*, 2001). Lurette *et al.* (2007) sugirieron que la implantación de unas estrictas medidas de higiene podían mantener de manera eficiente la prevalencia de infección de *Salmonella* en un nivel bajo.

De acuerdo con algunos autores, como Beloeil *et al.* (2007), los resultados de nuestro estudio mostraron que la presencia de restos de heces, restos de polvo y las superficies de los pasillos y corrales contaminadas son un importante reservorio de *Salmonella* entre lotes. Una de las causas más importantes para la persistencia de la bacteria tras la limpieza y desinfección de las naves es que no se realiza una adecuada limpieza antes de la desinfección (Van der Wolf *et al.*, 2001a). De esta manera quedan restos de materia orgánica que, como es bien sabido, puede disminuir el efecto del desinfectante. Beloeil *et al.* (2004a) comprobaron que la presencia de restos de heces en el suelo y en las paredes de los corrales suponía un riesgo para los cerdos recién incorporados. En nuestro estudio, las muestras de restos de heces presentes en el suelo de los corrales una vez limpios y desinfectados resultaron positivas en el 39,3% de las explotaciones. De hecho, ha sido determinado el estatus de contaminación en heces del lote anterior como un factor de riesgo importante para la infección por *Salmonella* del lote de cerdos al final del periodo de engorde.

En este estudio, el 32,6% y el 22,5% de las explotaciones permanecieron positivas a *Salmonella* en las muestras de superficie del pasillo y del corral, respectivamente, tras la limpieza y desinfección. Como consecuencia del inadecuado procedimiento de limpieza y desinfección llevado a cabo en las explotaciones de cerdos estudiadas, la superficie de los corrales antes de la limpieza y desinfección, que permanecía

contaminada el primer día de engorde de los lechones, ha sido determinada como un factor de riesgo importante para la infección por *Salmonella* del lote de cerdos al final del periodo de engorde. Este hecho podría explicarse porque los lechones son alojados en corrales que presentan contaminación residual de *Salmonell*, como ya comprobaron Beloeil *et al.* (2004a) en su estudio. Además, el porcentaje de muestras del corral contaminadas entre antes y después de la limpieza y desinfección aumentó incluso. Dichos resultados podrían estar relacionados con la negligencia del granjero o con la dificultad de acceso a la nave, como sucede en otras especies (Davies, R.H. y Breslin, 2003). El porcentaje de contaminación del pasillo también permaneció muy elevado tras la limpieza y desinfección, factor que en la bibliografía se considera muy importante puesto que, tanto el ganadero como los cerdos del lote deben cruzar el pasillo para llegar a los diversos corrales, y por tanto, diseminan la bacteria por toda la nave (Cardinale *et al.*, 2010; Baptista *et al.*, 2010a).

Además, el alto porcentaje de contaminación de *Salmonella* de la explotación antes de la llegada de los lechones fue evidente por el hecho de que en el 15,1% de las explotaciones la muestra de manos y botas de los granjeros resultaba positiva ya en esta fase. Según Lo Fo Wong *et al.* (2004) se trata de una fuente de contaminación de fácil control si se llevan a cabo unas buenas medidas de bioseguridad, como el lavado frecuente de las manos. Sin embargo, Cardinale *et al.* (2010) demostraron que los granjeros eran capaces de diseminar la bacteria con sus botas y utensilios entre lotes sucesivos. Cuando empezó el engorde, el ambiente contaminado y la forma de trabajar del granjero pudo infectar las tolvas, los bebederos, los vectores y finalmente el lote de cerdos de engorde (Baptista *et al.*, 2010a).

Los resultados de nuestro estudio mostraron que las muestras más protegidas de la contaminación cruzada del ambiente como el agua del depósito y el pienso del silo no suponen un riesgo importante para la entrada de la bacteria en las explotaciones. Las muestras de agua del depósito fueron positivas en un 3,4% de las muestras tras la limpieza y desinfección y el pienso del silo resultó positivo en el 1,6%, así que no parecen estar ligados a la contaminación de *Salmonella* de las explotaciones al final del periodo de engorde (Funk y Gebreyes, 2004). Sin embargo, cuando se contaminan en el interior de la nave a través del ambiente o de las heces de los animales facilitan la diseminación de la bacteria como se ha visto en el sector porcino y en otras especies (Letellier *et al.*, 1999; Oliveira *et al.*, 2002; Marin *et al.*, 2011). Aunque el pienso y el agua en origen no presenten *Salmonella*, una inadecuada limpieza y desinfección de las tolvas y de los bebederos puede favorecer su contaminación (Mannion *et al.*, 2007). De hecho, este estudio reveló la existencia de una relación significativa entre el estatus del lote de cerdos al final del periodo productivo y la contaminación de las tolvas después de la limpieza y desinfección (32,6%). Además, se encontró una alta contaminación de la superficie de los bebederos (21,4%). De acuerdo con estos resultados, Rho *et al.* (2001) detectaron la bacteria en bebederos y tolvas a pesar de

que las muestras de agua del depósito y pienso del silo resultaran negativas, lo cual nos indica de nuevo la importancia de la contaminación cruzada con el ambiente. Debido al hecho de que el agua y el pienso de los corrales estaban altamente contaminados antes de la limpieza y desinfección (10,1% y 10,8%, respectivamente), los cerdos pudieron haber sido un reservorio de la infección, contaminando directamente con las heces los bebederos y las tolvas. De hecho, Mannion *et al.* (2007) indicaron la existencia de un serio problema con la limpieza y desinfección de las tolvas y bebederos. Entre las diversas hipótesis que plantea este problema se piensa como posible causa que la presión del agua al limpiar el suelo de los corrales salpicara el material fecal contaminado a las tolvas y bebederos, resultando en mayores niveles de contaminación tras la limpieza. De este modo, sería posible que disminuyendo la presión del agua de limpieza se pudiera limitar la diseminación de la contaminación (Mannion *et al.*, 2007). Bahnson *et al.* (2006) apuntan hacia el diseño del bebedero, el bebedero de chupete evita que el agua se acumule donde es posible la contaminación con material fecal y por tanto debería reducir la transmisión entre los corrales sucesivos. En nuestro caso, todos los chupetes tenían debajo una cazoleta o la tolva donde se acumulaba el agua, de manera que, independientemente de la causa, grandes cantidades de material fecal contaminado permanecían en las tolvas y bebederos de las explotaciones estudiadas después de que los corrales fueran limpiados.

El papel de las plagas en la persistencia de *Salmonella* en las naves de engorde ha sido descrito en varios estudios (Funk y Gebreyes, 2004; Baptista *et al.*, 2010a; Cardinale *et al.*, 2010). De acuerdo con dichos estudios, nuestros resultados sugirieron que cerca del 30% de las muestras tomadas en las explotaciones estaban infestadas con plagas portadoras de *Salmonella*. Los roedores presentes en la explotación comprometen la eficacia del proceso de limpieza y desinfección. Aunque se eliminara la bacteria de las naves con la limpieza y desinfección, estos vectores las volverían a contaminar, como demuestran Rose *et al.*, 2000. Por este motivo, se debe implantar una buena limpieza y desinfección y un adecuado control de plagas entre los diferentes lotes para minimizar la posibilidad de infección del lote de cerdos entrante (Davies, R.H. y Breslin, 2003).

Es bien sabido que la contaminación residual de *Salmonella* en el ambiente de las naves de engorde incrementó el riesgo de la infección individual por *Salmonella* durante el periodo de engorde de los animales de nuestro estudio (Beloil *et al.*, 2007). Un estudio llevado a cabo por Fablet *et al.* (2003) mostró la estrecha relación existente entre la contaminación residual de las naves de engorde después de la limpieza y desinfección y el nivel de infección de los cerdos antes de ser sacrificados.

Al final del periodo de engorde, se confirmó la diseminación de *Salmonella*. El 86,4% de las explotaciones estudiadas estuvieron contaminadas con la bacteria en

alguna de las muestras recogidas. En otros estudios aparecen resultados similares demostrando la diseminación de *Salmonella* durante el engorde y un aumento de la prevalencia en las naves al final del periodo de engorde (Lo fo Wong *et al.*, 2002; Cardinale *et al.*, 2010). Además, los resultados de nuestro estudio demostraron que la contaminación ambiental con *Salmonella* aumenta a lo largo del ciclo productivo, siendo máxima al final del periodo de engorde en todas las muestras tomadas. Como consecuencia del alto nivel de contaminación de las explotaciones, la bacteria podría contaminar la piel del animal y podría facilitar la contaminación cruzada entre la canal y el equipo durante el procesado, incrementando el estatus de contaminación de los productos alimenticios finales (McCrea *et al.*, 2006; EFSA, 2008).

El serotipo aislado con mayor frecuencia de la producción porcina en este estudio fue *S. Typhimurium*, de acuerdo con la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2008). Del mismo modo, la contaminación con *S. Typhimurium* es un importante riesgo para la seguridad alimentaria, siendo el segundo serotipo implicado con mayor frecuencia en los brotes de salmonelosis humana en Europa (EFSA, 2013). *S. Rissen* y *S. Derby* también mostraron una alta prevalencia, coincidiendo con los resultados obtenidos a nivel europeo (EFSA, 2008). Mientras que el objetivo de reducción Comunitario probablemente se instaurará para todos los serotipos de la producción porcina, los EM deberían dirigir sus esfuerzos en sus programas de control oficial de *Salmonella* a todos los serotipos cuando éstos son de importancia para la Salud Pública en su país (EFSA, 2007). En caso contrario, otros serotipos frecuentes en España como *S. 4,12:i:-*, *S. Goldcoast* y/o *S. Anatum* podrían llenar el nicho dejado por *S. Typhimurium* y *S. Rissen*, como se ha descrito anteriormente para otros serotipos implicados en la producción porcina (Cogan y Humphrey, 2003).

Como conclusión, Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que los procedimientos de limpieza y desinfección aplicados por los granjeros en la Comunidad Valenciana fueron insuficientes para eliminar *Salmonella* de las explotaciones de cerdos puesto que el 70,8% de las explotaciones permanecían positivas en alguna de las muestras tomadas tras la limpieza y desinfección. Las muestras más contaminadas fueron los restos de heces del lote anterior, la superficie del pasillo y la superficie de la tolva. Durante el periodo de engorde, las muestras más contaminadas continúan siendo las heces y las superficies, además de las manos y botas del granjero, el polvo y los vectores. Los principales factores de riesgo para la contaminación en heces de *Salmonella* de los lotes de cerdos al final del periodo de engorde son el estatus de contaminación de *Salmonella* del lote anterior en heces, la superficie del corral antes de la limpieza y desinfección y la superficie de la tolva después de la limpieza y desinfección. El serotipo aislado con mayor frecuencia en la producción porcina de la Comunidad Valenciana es *S. Typhimurium*, seguido muy de cerca por *S. Rissen* y, posteriormente, *S. Derby*.

5.3.2. Detección de *Salmonella* en heces a lo largo del periodo de engorde de porcino y tras su transporte a matadero.

Estudios previos han demostrado que el estatus de *Salmonella* del lote de cerdos puede ir variando con el tiempo (Kranker *et al.*, 2003; Lo Fo Wong *et al.*, 2004). En un estudio realizado por Lo Fo Wong *et al.* (2004) el periodo de duración de un estatus determinado varió entre 1 mes y 2 años, tiempo máximo que duró el estudio. Por este motivo, para evaluar la dinámica de infección de *Salmonella* en el ganado porcino, se debe realizar un muestreo repetido en diferentes lotes de animales, como hemos diseñado en este estudio. Estimaciones puntuales de la prevalencia en explotaciones infectadas subclínicamente no son tan fiables como las variaciones ocurridas en la prevalencia de *Salmonella* entre lotes dentro de un mismo sistema y a lo largo del tiempo (Funk *et al.*, 2001a; Beloeil *et al.*, 2003; Kranker *et al.*, 2003). Como se ha descrito anteriormente, existen muchos factores que pueden dar lugar a un cambio en el estatus de *Salmonella*, de manera que puede cambiar de un ciclo productivo a otro y el estatus valorado en un determinado momento puede no ser válido 6 meses después. En cualquier caso, se ha demostrado que lotes de cerdos infectados que excretan *Salmonella* en heces durante los primeros días del periodo productivo continúan excretando la bacteria a lo largo del periodo de engorde, constituyendo una posible fuente de contaminación en la explotación (Kranker *et al.*, 2003; Lo Fo Wong *et al.*, 2004).

Se debe tener en cuenta esta posible recirculación de la bacteria a la hora de querer erradicar *Salmonella* de los productos cárnicos de cerdo, por eso el control de *Salmonella* está basado en la implantación de acciones preventivas a lo largo de toda la cadena de producción. De manera más específica, las medidas deberían estar dirigidas no sólo hacia prevenir la introducción de *Salmonella* en la explotación sino también a prevenir la transmisión dentro de la misma granja y a aumentar la resistencia a la infección (EFSA, 2006). Además, la Organización Mundial de la Salud (OMS) va más allá, ya en 1983 publicó una guía para la prevención y el control de la salmonelosis en la que consideraba tres líneas de defensa: Una primera línea centrada en cada una de las etapas de producción de alimentos de origen animal a nivel de granja, una segunda línea dedicada a la mejora de las medidas de higiene durante el sacrificio y posterior procesado de la carne y, por último, una tercera línea dirigida a una buena educación de la industria y del consumidor en la preparación final del alimento y en la aplicación de unas medidas de higiene efectivas (WHO, 1983).

Otro aspecto importante a tener en cuenta en la vigilancia de *Salmonella* y en los programas de monitorización llevados a cabo por el gobierno y/o las compañías de cerdos es el diseño del estudio (Sanchez *et al.*, 2007). La estimación de la prevalencia se ve afectada por el tipo y tamaño de la muestra, el tiempo de muestreo, así como por el test diagnóstico utilizado (Funk, 2003; Hurd *et al.*, 2003; Lo Fo Wong, 2004). En

el estudio preliminar de la prevalencia de *Salmonella* en cerdos para sacrificio realizado a nivel de la UE, se tomó como método de muestreo oficial la recogida de muestras de los ganglios linfáticos (Decisión 2006/668/CE; EFSA 2008). En el presente estudio se quiso determinar la prevalencia en una etapa anterior, en las naves de engorde, cuando los cerdos entran con dos meses de edad aproximadamente y salen a matadero cuando su peso es de 110-120 Kg, tras 5 meses de cebo aproximadamente. Se entiende que el aislamiento de *Salmonella* de los ganglios linfáticos refleja una exposición a largo plazo a nivel de granja, pero también puede indicar una infección durante el transporte y la espera en el matadero, mientras que las muestras fecales positivas son indicativas de una excreción activa (Baptista *et al.*, 2010a). Según un estudio realizado en el Reino Unido, el uso de muestras de mezclas fecales para la detección bacteriológica de *Salmonella* fue considerada más sensible que la detección individual, puesto que aumenta la probabilidad de capturar heces positivas en la mezcla (Arnold *et al.*, 2005; Wilkins *et al.*, 2010). Además, Buhr *et al.* (2007) realizaron un estudio comparando diferentes métodos de muestreo para la detección de *Salmonella* en la cama del pollo *broiler* y concluyeron que el muestreo de la cama con calzas fue el método más sensible mientras que el muestreo fecal fue el menos sensible. En su estudio determinaron que cuando el material de muestreo toma mayor contacto con la cama caminando sobre el material muestreado, es más probable detectar *Salmonella* en la muestra cuando ésta está presente. Además, se ha descrito que las técnicas bacteriológicas para la detección de *Salmonella* tienen una especificidad muy alta (hasta el 100%) pero la sensibilidad es baja (Funk *et al.*, 2000). Por tanto, con el objetivo de aumentar la sensibilidad del muestreo, en nuestro estudio se decidió recoger muestras de heces con calzas de celulosa caminando sobre el lecho de heces presente en los corrales de los cerdos para su posterior análisis bacteriológico. Además, se tomó la primera muestra cuando los lechones tenían entre 6 y 10 semanas, edad en la que se ha descrito que los cerdos excretan al máximo (Kranker *et al.*, 2003).

Este estudio sugirió que las variaciones de *Salmonella* en los índices de detección de heces a lo largo del periodo de engorde ocurren independientemente del hecho de que los lotes de cerdos lleguen infectados de las naves de transición o sean infectados en las naves de engorde. Más del 50,0% de los lechones llegaron a las naves de engorde excretando la bacteria, esto refuerza la idea de que las medidas de actuación para reducir la prevalencia de *Salmonella* no sólo deben centrarse en los cerdos de engorde sino también en las madres y lechones recién destetados (Wales *et al.*, 2011). En un estudio preliminar realizado por el Centro de Investigación y Tecnología Animal (CITA) entre los años 2007 y 2008 (González *et al.*, 2009) en la explotación de las madres de los lotes de lechones en estudio, se pudo comprobar la presencia de *Salmonella* tanto en las heces de las cerdas (31,5%) como en el ambiente de las salas de maternidad tras la limpieza y desinfección (70,5%). Los mayores porcentajes de muestras de heces positivas se obtuvieron unos días antes del parto (41,0%) y entre 5

y 9 días postdestete (56%), dos momentos que coinciden con el traslado de los animales de una nave a otra y con el destete y aparición del celo en las cerdas. En dicho estudio pudimos comprobar cómo existen picos de excreción de *Salmonella* a lo largo del ciclo productivo que coinciden con momentos clave en el estado fisiológico de las hembras reproductoras (Nollet *et al.*, 2005a). Los lechones podrían infectarse desde ese mismo momento o en las naves de transición (Funk *et al.*, 2001a; Kranker *et al.*, 2001; Lurette *et al.*, 2007). Cardinale *et al.* (2010) mostraron en su estudio que el riesgo de infección de *Salmonella* en los cerdos de engorde aumentaba cuando no existía un buen procedimiento de limpieza y desinfección en su primera etapa de vida (Wales *et al.*, 2011).

En cualquier caso, al mes y medio de entrar los lechones en la explotación se detectó *Salmonella* en torno al 45,0% y se mantuvo prácticamente el mismo porcentaje en el momento de la siguiente toma de muestras, a los tres meses. Sin embargo, tanto en los lotes positivos a la entrada como en los negativos se produjo un aumento del porcentaje de detección de *Salmonella* en el momento de la salida al matadero alcanzando el 70,8% y el 55,0%, respectivamente. Existen estudios que demuestran que mientras la seroconversión ocurre durante el último tercio de la fase de engorde, la excreción se da principalmente durante la primera mitad del periodo, aunque reconocen que dichos resultados deberían ser estudiados y documentados con más detalle (Beloil *et al.*, 2003; Kranker *et al.*, 2003). En un estudio realizado en Francia, el 37,6% de los lotes de cerdos excretaron la bacteria al final del periodo de engorde (Beloil *et al.*, 2004b). En nuestro estudio, los cerdos no salían de una sola vez de la explotación, sino que iban saliendo por grupos en función del peso alcanzado, aproximadamente a lo largo de un mes. Esta podría ser la causa del aumento de excreción al final del periodo de engorde ya que como demuestra McGlone *et al.* (1993) todos los cerdos del lote, tanto los que son cargados en el camión como los que se quedan en la explotación, experimentan estrés asociado con el manejo. Hay que entender que los cerdos pueden estar acostumbrados al manejo del granjero pero en los días de carga en el camión para el transporte al matadero intervienen una o dos personas más, a los que los animales no están acostumbrados. Otro posible factor de estrés que evaluaron fue la privación de pienso y de agua, que afecta no sólo a los que van a ser sacrificados al día siguiente sino a todos los cerdos de la explotación. En este mismo estudio, demostraron que los cerdos estresados pueden ser más susceptibles a patógenos, incluido *Salmonella* spp. Como ya es bien sabido, para padecer la enfermedad suele ser necesario algún factor desencadenante y en el caso de la salmonelosis uno de los factores más importantes es el estrés (Fernández *et al.*, 2006).

Como reflejan los resultados de este estudio, la detección de la bacteria es tan elevada a lo largo del ciclo productivo que no existe ningún momento concreto que sea mejor para determinar el estatus de *Salmonella*, independientemente del día en

que se tome la muestra tenemos siempre la misma probabilidad de detectarla. Sin embargo, cuanto antes pueda ser detectado positivo el lote, menos gastos conllevarán las medidas de control y erradicación del lote para sacrificio.

No obstante, los programas de vigilancia y control de *Salmonella* no cesan a nivel de granja. Como se ha comentado anteriormente, el control debería llegar hasta el final de las plantas de procesado e incluso los mercados donde se vende la carne. Numerosos estudios han demostrado un aumento en la prevalencia de *Salmonella* desde la granja al matadero, claramente explicado por el impacto del transporte y el periodo de espera para el sacrificio en los corrales de los mataderos (Craven y Hurst, 1982; Berends *et al.*, 1996; Hurd *et al.*, 2001:2003; Fosse *et al.*, 2008), puesto que en sólo 2 o 3 horas *Salmonella* puede pasar de la cavidad oral al tracto gastrointestinal (Hurd *et al.*, 2001:2002; Loynachan y Harris, 2005). El estrés durante el transporte puede provocar un aumento en la excreción de la bacteria en cerdos portadores no aparentes y por tanto, la contaminación del camión y la interinfección de los cerdos durante la espera en el matadero (Fravallo *et al.*, 1999). Además, del mismo modo que en este estudio, varios autores demostraron que los camiones que transportan los animales vivos estaban frecuentemente contaminados con la bacteria, constituyendo una fuente importante de contaminación de *Salmonella* para el lote de animales, ya sea porcino u otras especies (Slader *et al.*, 2002; Heyndrickx *et al.*, 2002; Marin *et al.*, 2009). Los resultados mostraron que tras el transporte aumentó en un 20% la detección de *Salmonella* en las heces de los cerdos. Además, se ha demostrado la alta contaminación de *Salmonella* de los corrales de espera en los mataderos, pudiendo ser una fuente de infección importante antes del sacrificio (Rostagno *et al.*, 2003). Los resultados de este estudio mostraron que en el 100% de los muestreos se detectó *Salmonella* en los corrales y pasillos de los mataderos. Estos hallazgos son de suma importancia puesto que se ha descrito que la rápida infección de los cerdos, tan sólo 2 horas después del contacto con *Salmonella*, particularmente en los corrales de espera en el matadero, es para algunos autores la mayor causa del aumento en el aislamiento de la bacteria de los cerdos para sacrificio (Hurd *et al.*, 2001). De este modo, lotes de cerdos determinados como negativos en granja podrían entrar en la cadena de sacrificio y posterior procesado portando la bacteria, interna o externamente. Debido al riesgo que esto supone para la cadena alimentaria, se están realizando numerosos estudios con el objetivo de identificar los factores de riesgo de *Salmonella* en el matadero tras el sacrificio de los cerdos (Algino *et al.*, 2009; Delhalle *et al.*, 2008; Letellier *et al.*, 2009; Baptista *et al.*, 2010b). Sin embargo, el principal problema del análisis en el matadero es el tiempo necesario para determinar una muestra positiva según el método oficial ISO 6579-2002 (Anexo D). Es bien sabido que entre 24 y 36 horas tras el sacrificio, las canales pueden estar en mercados listas para el consumo humano. Por este motivo, se deberían desarrollar técnicas diagnósticas de rutina más modernas, prácticas, rentables y adecuadas para determinar el estatus de los lotes de cerdos en un corto periodo de tiempo y con la más alta sensibilidad.

Los cinco serotipos aislados con mayor frecuencia de las heces de los cerdos fueron *S. Typhimurium*, *S. Rissen*, *S. Derby*, *S. 4,12:i:-* y *S. Goldcoast*, coincidiendo con los cinco serotipos aislados con mayor frecuencia dentro de las explotaciones donde engordaban dichos animales. En un estudio realizado en España en la Comunidad Autónoma de Aragón, Vico *et al.* (2011) encontraron en nódulos linfáticos mesentéricos una gran variedad de serotipos, siendo también los más prevalentes *S. Typhimurium*, *S. 4,[5],12:i:-* y *S. Rissen*. En otro estudio realizado en Canadá, Rajic *et al.* (2005) encontraron también serotipos similares en las muestras de heces y del ambiente dentro de cada granja, indicando la diseminación de clones entre animales y ambiente. De estos cinco serotipos, *S. Typhimurium*, *S. Derby* y *S. 4,12:i:-* se hallan frecuentemente en los casos de infección por *Salmonella* en humana, y los dos primeros se encuentran entre los diez serotipos aislados con mayor frecuencia en humanos (EFSA, 2008; EFSA, 2013). El día en que los cerdos salieron a matadero se encontraron 8 serotipos diferentes en granja mientras que tras el transporte se obtuvieron 12, de los cuales 4 serotipos no se habían detectado previamente a lo largo del ciclo productivo en granja. Este fenómeno ha sido descrito previamente por varios autores (Beloil *et al.*, 2003:2004b; Rajic *et al.*, 2005) y se atribuye principalmente a tres causas: la infección cruzada durante el transporte y alojamiento en los corrales de espera en el matadero (Hurd *et al.*, 2003; Fosse *et al.*, 2008), la proliferación de *Salmonella* en el animal asociado con el estrés provocado por el transporte y la retirada del alimento (Craven y Hurst, 1982; McGlone *et al.*, 1993) y diversos factores implicados en el muestreo (Hurd *et al.*, 2001). Tanto en granja como en el matadero, los serotipos más prevalentes fueron *S. Rissen*, *S. Derby* y *S. Typhimurium*. *S. Rissen* duplicó su aislamiento tras el transporte posiblemente porque fue el serotipo que se aisló en el 50,0% de los camiones contaminados, aunque desde el punto de vista de Salud Pública hoy por hoy es menos importante puesto que no es un causante común de infecciones en humana en la UE (EFSA, 2008). En las instalaciones de los mataderos, los cinco serotipos más prevalentes fueron *S. Rissen*, *S. Typhimurium*, *S. Derby*, *S. Anatum* y *S. Bredeney*. Todos ellos se encontraron entre los diez serotipos aislados con mayor frecuencia de los ganglios linfáticos en el estudio preliminar realizado por la EFSA (2008). Es bien sabido que algunos procesos durante el sacrificio del cerdo, como el sangrado, escaldado y evisceración, expone el músculo estéril a contaminantes microbiológicos como *Salmonella* que están presentes en la piel, el tracto digestivo e, incluso, el ambiente (Brown, 1982; Sheridan, 1998). Por tanto, es de suma importancia reducir la presencia de *Salmonella* en los cerdos puesto que se considera que la introducción de la bacteria en los mataderos por cerdos infectados es la mayor fuente de contaminación de la carne y de las infecciones humanas (Ethelberg *et al.*, 2008).

Como conclusión, independientemente de si los lotes llegan a la granja excretando la bacteria en heces o si se infectan durante el periodo de engorde, ambos presentan un porcentaje similar de detección de *Salmonella* a partir del mes y medio

de entrada, y experimenta un aumento justo a la salida. Se observó un aumento en la detección de *Salmonella* tras el transporte al matadero, posiblemente influenciado por la presencia de camiones contaminados con la bacteria ya que cuando los lotes transportados por camiones contaminados se eliminaban del análisis estadístico no aumentaba el número de lotes positivos tras el transporte. El muelle de descarga, pasillo y corrales de los mataderos donde son alojados los cerdos en espera del sacrificio están altamente contaminados con *Salmonella*, siendo una importante fuente de contaminación para los cerdos inmediatamente antes de ser sacrificados. Los serotipos aislados con mayor frecuencia coinciden tanto en el ambiente de la explotación como en las heces de los cerdos, *S. Typhimurium* es el serotipo más prevalente en ambos casos. El patrón de los serotipos más prevalentes en heces varía a lo largo del periodo de engorde y también tras el transporte a matadero. En cualquier caso, los tres serotipos más prevalentes (*S. Typhimurium*, *S. Derby* y *S. Rissen*) coinciden tanto antes del transporte como después del transporte, en los camiones contaminados y en las instalaciones del matadero.

5.4. CAPACIDAD DE DESARROLLO DE *BIOFILM* DE LAS CEPAS AISLADAS EN EXPLOTACIONES PORCINAS

Para prevenir la contaminación de *Salmonella* de los productos elaborados a partir de carne de cerdo o sus derivados, se requiere un conocimiento detallado de las fuentes de contaminación más importantes asociadas con la presencia de la bacteria en el sistema productivo. Existen varias hipótesis relacionadas con la alta persistencia de *Salmonella* en las explotaciones porcinas, como puede ser la falta de material científico sobre la desinfección en el sector agrícola (Baptista *et al.*, 2010a), la ausencia de métodos oficiales para probar la eficacia de los desinfectantes (Lasa, 2004), la utilización de una agua de limpieza con dureza y temperatura incorrectas (Leriche y Carpentier, 1995; Taylor y Holah, 1996), la ausencia de detergente durante el proceso de limpieza y desinfección (Baptista *et al.*, 2010a), la contaminación residual de las naves tras la limpieza y desinfección (Funk *et al.*, 2001ab; Beloeil *et al.*, 2004a; Baptista *et al.*, 2010a), la implantación del sistema de producción continuo *versus* el sistema todo dentro-todo fuera (Cardinale *et al.*, 2010), vacíos sanitarios menores de tres días entre lotes (Beloeil *et al.*, 2004a) y/o la capacidad de formación de *biofilm* por parte de las cepas de *Salmonella* (Marin y Lainez, 2009).

Nuestros resultados muestran que las heces de los cerdos, la superficie del pasillo, los restos de heces tras la limpieza y desinfección y la superficie de la tolva son las muestras más contaminadas de *Salmonella* en las explotaciones porcinas, de acuerdo con otros autores (Kranker *et al.*, 2003; Lo Fo Wong *et al.*, 2004; Beloeil *et al.*, 2007). Estos datos sugieren que no se lleva a cabo una adecuada limpieza y desinfección en

las explotaciones porcinas de la Comunidad Valenciana, lo que puede derivar en la presencia de una contaminación ambiental residual capaz de infectar el siguiente lote de cerdos (Lo Fo Wong *et al.*, 2002; Beloeil *et al.*, 2007; Cardinale *et al.*, 2010). También se ha demostrado que, independientemente de la causa, existe un verdadero problema en la limpieza de las tolvas y bebederos, como sugieren los resultados de este estudio (Mannion *et al.*, 2007). *Salmonella* puede transmitirse, además de por ingestión, por aire a través de aerosoles y polvo. El polvo acumulado en el ambiente, ventanas y distribución de pienso y de agua es considerado como otro factor de riesgo a tener en cuenta (Lo Fo Wong *et al.*, 2002). De esta manera, el porcentaje de muestras positivas a *Salmonella* (20,9%) que se ha obtenido en este estudio sugiere que un nuevo lote podría ser infectado con la bacteria al entrar en la explotación. El papel del granjero también es muy importante a la hora de mantener y transmitir *Salmonella* en la explotación (Cardinale *et al.*, 2010), en este estudio el 21,7% y el 16,9% de las muestras de manos y botas del granjero y de sus utensilios, respectivamente, dieron positivo a *Salmonella*. El porcentaje de muestras positivas de la superficie de los corrales también fue elevado (19,7%). Dichos resultados podrían estar relacionados con la negligencia del granjero puesto que si, una vez limpia y desinfectada la nave, el granjero continúa entrando con las botas contaminadas y sigue realizando reparaciones con sus utensilios contaminados, *Salmonella* continuará estando presente en la explotación (Cardinale *et al.*, 2010). Por otro lado, las muestras de agua del depósito y pienso del silo que están protegidos de la contaminación cruzada del ambiente no parecen ser importantes fuentes de contaminación de la bacteria.

Además, en nuestros resultados observamos que independientemente del origen de la muestra, el 69,0% de las cepas de *Salmonella* aisladas es capaz de producir *biofilm*. Hasta la fecha, desde nuestro mejor conocimiento, no existen muchos artículos que describan la capacidad de desarrollo de *biofilm* en las cepas de *Salmonella* aisladas a nivel de campo en el sector porcino. El crecimiento en *biofilms* representa la forma habitual de crecimiento de las bacterias en la naturaleza (Lasa *et al.*, 2005). Además, el *biofilm* puede conferir a las bacterias protección mecánica, química y/o biológica en el medio natural (Solano *et al.*, 2002). Se ha descrito la importancia de la formación de *biofilm* en cepas de *Salmonella* aisladas de muestras recogidas en granjas de pollos de engorde (Marin *et al.*, 2009), aunque sólo se ha descrito como un importante factor de riesgo para *Salmonella* en los camiones que llevan a los animales al matadero (Ramesh *et al.*, 2002) y en los sistemas de agua (Gradel *et al.*, 2004). Existe un gran número de aspectos en los que los *biofilms* son potencialmente importantes en la industria porcina (Waddilove, 2008) como su resistencia a los antibióticos (Lasa *et al.*, 2005) o la resistencia de las bacterias que están dentro del *biofilm* a los desinfectantes. En nuestro estudio, pudimos observar cómo tras la limpieza y desinfección sobrevivieron prioritariamente las cepas capaces de producir *biofilm* (74,9%). Los desinfectantes constituyen una parte importante de

los programas de bioseguridad y se clasifican en ácidos, alcoholes, aldehídos, alcalinos, compuestos de clorhexidina, halógenos, peróxidos, fenoles y compuestos de amonio cuaternario (Dvorak, 2005). Según las encuestas realizadas a los granjeros, los tipos de desinfectantes utilizados en las explotaciones porcinas en estudio fueron aldehídos y fenoles. La aplicación de compuestos cuyo agente activo fue glutaraldehído, derivado fenólico, glutaraldehído más formaldehído o formaldehído fueron insuficientes para eliminar *Salmonella* de las explotaciones porcinas en condiciones de campo independientemente de la capacidad de desarrollo de *biofilm* de la cepa y del serotipo de *Salmonella*. Como se ha demostrado en otros estudios la contaminación por *Salmonella* se reduce en la explotación pero no se elimina (Davies, R.H. y Wray, 1996b; Rose *et al.*, 1999). Aún así, el desinfectante más efectivo frente a *Salmonella* y las cepas formadoras de *biofilm* fue el compuesto formado por formaldehído más glutaraldehído. Los aldehídos son desinfectantes muy efectivos y de amplio espectro y, entre ellos, el glutaraldehído se considera más eficaz frente a la presencia de materia orgánica, jabón y agua dura que el formaldehído (Dvorak, 2005). Sin embargo, existen estudios en los que se ha demostrado que el formaldehído es más eficaz que el glutaraldehído en condiciones de campo (Davies, R.H. y Wray, 1995; Davies, R.H. *et al.*, 2001; Davies, R.H. y Breslin, 2003; Gradel *et al.*, 2004), siendo una posible razón por la que ambos compuestos juntos hayan resultado más efectivos en este estudio. Aún así, los beneficios de su uso como desinfectantes deberían ser considerados puesto que son altamente irritantes, tóxicos para humanos y animales por contacto o inhalación y son potencialmente carcinogénicos (Funk y Gebreyes, 2004; Dvorak, 2005). Otro hallazgo importante en este estudio fue que a pesar de que el compuesto formado por glutaraldehído más formaldehído fue el desinfectante más eficaz frente a las cepas de *Salmonella* formadoras de *biofilm*, estos compuestos activos fueron menos eficaces por separado, permaneciendo positivas el 94,7% de las muestras tras la utilización de glutaraldehído. Por todos estos motivos, una buena alternativa a considerar sería la utilización del derivado fenólico que, aunque fue el menos eficaz, no fue tanta la diferencia con el resto de desinfectantes. Este compuesto suele ser utilizado en el sector agrícola porque su espectro de acción es amplio, aunque menor que el de los aldehídos, es efectivo en presencia de materia orgánica y aguas duras y presenta cierta actividad residual tras el secado. Además, suele ser seguro para las personas que lo manejan. El único inconveniente es que concentraciones superiores al 2% son altamente tóxicas para animales, especialmente gatos y cerdos (Dvorak, 2005). Se necesitan estudios que imiten la desinfección de las explotaciones porcinas en diferentes condiciones aunque los test en condiciones de campo son difíciles de estandarizar, pudiendo afectar a su reproducibilidad (Reybrouck, 1999).

Coincidiendo con los resultados anteriores, los principales serotipos aislados de las explotaciones porcinas fueron *S. Rissen*, *S. Typhimurium* y *S. Derby*. Y tras analizar la capacidad de producir *biofilm*, el serotipo con mayor capacidad de producir *biofilm* fue *S. Rissen* y el serotipo con menor capacidad fue *S. Derby*. Después de la limpieza y

desinfección, se volvieron a obtener los mismos resultados, manifestando una vez más que los serotipos más prevalentes en las explotaciones porcinas son aquellos más resistentes tanto a la limpieza y desinfección como a otras condiciones como la humedad y la temperatura. De estos tres serotipos, *S. Typhimurium* y *S. Derby* son causa frecuente de infecciones por *Salmonella* en humanos dentro de la UE (EFSA, 2008). Del mismo modo, la contaminación con *S. Typhimurium* es un importante riesgo para la seguridad alimentaria, siendo el segundo serotipo implicado con mayor frecuencia en los brotes de salmonelosis humana en Europa (EFSA, 2013).

Como conclusión, el 69,0% de las cepas aisladas de las diferentes fuentes de contaminación a nivel de campo fue capaz de producir *biofilm*. El uso de aldehídos y fenoles como desinfectantes en las explotaciones porcinas fue insuficiente para erradicar *Salmonella* de las naves. Tras la limpieza y desinfección sobrevivieron el 74,9% de las cepas capaces de producir *biofilm*, sugiriendo su posible protección frente a los desinfectantes. El desinfectante cuyo principio activo es el glutaraldehído pareció ser el menos eficaz frente a estas cepas puesto que sobrevivieron el 94,7% tras su utilización. Sin embargo, es necesaria la realización de más estudios valorando la eficacia de los diferentes desinfectantes utilizados, las concentraciones adecuadas y su forma de aplicación en condiciones de campo, así como comparando su eficacia con cepas productoras y no productoras de *biofilm* para poder sacar conclusiones definitivas.

6. CONCLUSIONES

1. El número de explotaciones que permanecen contaminadas con *Salmonella* tras la limpieza y desinfección de las instalaciones es elevado. Las muestras más contaminadas son los restos de heces del lote anterior, la superficie del pasillo y la superficie de la tolva.
2. Existe relación entre el número de animales alojados por grupo, la disposición de un circuito secundario para agua medicada y el periodo mínimo de vacío sanitario con el estatus de contaminación en heces del lote a la salida de la explotación. También se ha encontrado relación entre la distancia al núcleo urbano, las visitas a otras granjas, la entrada del camión del pienso dentro del vallado sanitario, el promedio de reposición del pienso en los silos de la explotación, el uso de acidificantes en el pienso, el tipo de desinfectante utilizado y el diagnóstico de las causas de muerte de los cerdos con el estatus de contaminación ambiental de la explotación al final del periodo de engorde.
3. Las principales fuentes de contaminación que hemos encontrado durante el periodo de engorde son las heces de los cerdos, las superficies del corral y del pasillo, las manos y botas del granjero, el polvo y los vectores. El serotipo aislado con mayor frecuencia en la producción porcina de la Comunidad Valenciana es *S. Typhimurium*, seguido muy de cerca por *S. Rissen* y, posteriormente, *S. Derby*.
4. Los principales factores de riesgo para la contaminación en heces de *Salmonella* de los lotes de cerdos al final del periodo de engorde son el estatus de contaminación en heces de *Salmonella* del lote anterior, la superficie del corral antes de la limpieza y desinfección tras la salida del lote anterior y la superficie de la tolva a la entrada de los lechones en la explotación.
5. Independientemente de si los lotes llegan a la granja excretando la bacteria en heces o si se infectan durante el periodo de engorde, presentan un porcentaje similar de detección de *Salmonella* a partir del mes y medio de la entrada en la explotación, y experimentan un aumento justo a la salida. El patrón de los serotipos más prevalentes en heces varía a lo largo del periodo de engorde.
6. El transporte a matadero induce un aumento significativo en los porcentajes de detección de *Salmonella*. La presencia de camiones contaminados con la bacteria contribuye a dicho incremento. Además, el patrón de los serotipos aislados durante el periodo de engorde cambia después del transporte a matadero.
7. El muelle de descarga, pasillo y corrales de los mataderos donde son alojados los cerdos en espera del sacrificio están altamente contaminados con *Salmonella*, siendo una importante fuente de contaminación para los cerdos inmediatamente antes de ser sacrificados, a investigar en posteriores estudios.

8. El 69,0% de las cepas aisladas de las diferentes fuentes de contaminación en el sector porcino es capaz de producir *biofilm*. El desinfectante cuyo principio activo es el glutaraldehído es el menos eficaz frente a estas cepas. Sin embargo, es necesaria la realización de más estudios valorando la eficacia de los diferentes desinfectantes, las concentraciones adecuadas y su forma de aplicación en condiciones de campo, así como comparando su eficacia con cepas productoras y no productoras de *biofilm* para poder sacar conclusiones definitivas.

7. BIBLIOGRAFÍA

- AEMET (Agencia Estatal de Meteorología) (2013). Gobierno de España. www.aemet.es [Última consulta: 10 agosto 2013].
- AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición) (2011). Ministerio de Sanidad y Política Social e Igualdad. www.aesan.msc.es [Última consulta: 15 diciembre 2011].
- Ahmed, W.; Sawant, S.; Huygens, F.; Goonetilleke, A.; Gardner, T. (2009). Prevalence and occurrence of zoonotic bacterial pathogens in surface waters determined by quantitative PCR. *Water Res.* 43: 4918–4928.
- Aho, M. (1992). Problems of *Salmonella* sampling. *Int. J. Food Microbiol.* 15:225-235.
- Algino, R.J.; Badtram, G.A.; Ingham, B.H.; Ingham, S.C. (2009). Factors associated with *Salmonella* prevalence on pork carcasses in very small abattoirs in Wisconsin. *J. Food Prot.* 72(4):714-721.
- Amass, S.E.; Clark, L.K. (1999). Biosecurity considerations for production units. *J. Swine Health Prod.* 7(5):217-228.
- Anderson, E.S.; Ward, L.R.; De Saxe, M.J.; De Sa, J.D.H. (1977). Bacteriophage-typing designations *Salmonella typhimurium*. *J. Hyg.* 78:297-300.
- ANICE (Asociación Nacional de Industrias de la Carne de España) (2014). www.anice.es [Última consulta: 20 enero 2014].
- Arguello, H.; Alvarez-Ordoñez, A.; Carvajal, A.; Rubio, P.; Prieto, M. (2013). Role of slaughtering in *Salmonella* spreading and control in pork production. *J. Food Prot.* 76(5):899-911.
- Arnold, M.E.; Cook, A.; Davies, R. (2005). A modeling approach to estimate the sensitivity of pooled faecal samples for isolation of *Salmonella* in pigs. *J. R. Soc. Interface.* 2:365-372.
- Asai, T.; Fujii, S.; Osumi, T.; Otagiri, Y.; Namimatsu, T.; Sato, S. (2002). Isolation and serological survey of *Salmonella* in pigs in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 64:1011-1015.
- Astorga, R.J.; Echeita, A.; Maldonado, A.; Valdezate, S.; Carbonero, A.; Aladueña, A.; Arenas, A. (2007). Surveillance and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Strains Isolated from Slaughtered Pigs in Spain. *J. Food Prot.* 70(6):1502-1506.

- Baggesen, D.L.; Wegener, H.G.; Bager, F.; Stege, H.; Christensen, J. (1996). Herd prevalence of *Salmonella enterica* infections in Danish slaughter pigs determined by microbiological testing. *Prev. Vet. Med.* 26:201-213.
- Bahnson, P.B.; Fedorka-Cray, P.J.; Ladely, S.R.; Mateus-Pinilla, N.E. (2006). Herd-level risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in U.S. market pigs. *Prev. Vet. Med.* 76:249-262.
- Bahnson, P. B.; Troutt, H. F.; Weigel, R. M.; Miller, G. Y.; Isaacson, R. E. (2007). Risk factors for the detection of *Salmonella* in ileocolic lymph nodes in US slaughtered. *Proceedings of the 7th International Symposium on the Epidemiology and Control of Food-borne Pathogens in Pork*. Verona, Italy. Pp. 73–76.
- Baird-Parker (1991). Foodborne salmonellosis. En: *Lancet Review of foodborne illness*. Edward Arnold. London, United Kingdom.
- Baptista, F.M.; Alban, L.; Nielsen, L.R.; Domingos, I.; Pomba, C.; Almeida, V. (2010a). Use of herd information for predicting *Salmonella* status in pig herds. *Zoonoses Public Health*. 57(1):49-59.
- Baptista, F.M.; Dahl, J.; Nielsen, L.R. (2010b). Factors influencing *Salmonella* carcass prevalence in Danish pig abattoirs. *Preventive Veterinary Medicine*. 95:231-238.
- Barber, D.A.; Bahnson, P.B.; Isaacson, R.E.; Jones, C.J.; Weigel, R.M. (2002). Distribution of *Salmonella* in swine production ecosystems. *J. Food Prot.* 65:1861-1868.
- Barrow, P.A. (1993). *Salmonella* control-past, present and future. *Avian Pathology*. 22:651-669.
- Barrow, P.A.; Bumstead, N.; Marston, K.; Lovell, M.A.; Wigley, P. (2003). Faecal shedding and intestinal colonization of *Salmonella enterica* in in-bred chickens: the effect of host-genetic background. *Epidemiol. Infect.* 132:117-126.
- Bajk, G.J.; Roh, W.S. (1998). Estimates of cases and social economic costs of foodborne salmonellosis in Korea. *J. Food Hygiene Safety*. 13:299-304.
- Beloeil, P.A.; Eveno, E.; Gerault, P.; Fravallo, P.; Rose, V.; Rose, N.; Madec, F. (1999). An exploratory study about contamination of pens of finishing pigs by ubiquitous *Salmonella*. *Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork*. Washington DC, USA. Pp. 101-104.

- Beloeil, P.A.; Chauvin, C.; Proux, K.; Rose, N.; Queguiner, S.; Eveno, E.; Houdayer, C.; Rose, V.; Fravallo, P.; and Madec, F. (2003). Longitudinal serological responses to *Salmonella enterica* of growing pigs in a subclinically infected herd. *Preventive Veterinary Medicine*. 60: 207-226.
- Beloeil, P.A.; Fravallo, P.; Fablet, C.; Jolly, J.P.; Eveno, E.; Hascoet, Y.; Chauvin, C.; Salvat, G.; Madec, F. (2004a). Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* shedding by market-age pigs in French farrow-to-finish herds. *Preventive Veterinary Medicine*. 63: 103-120.
- Beloeil, P.A.; Chauvin, C.; Proux, K.; Madec, F.; Fravallo, P.; Alioum, A. (2004b). Impact of the *Salmonella* status of market-age pigs and the pre-slaughter process on *Salmonella* caecal contamination at slaughter. *Vet. Res.* 35:513-530.
- Beloeil, P.A.; Chauvin, C.; Proux, K.; Fablet, C.; Madec, F.; Alioum, A. (2007). Risk factors for *Salmonella* seroconversion of fattening pigs in farrow-to-finish herds. *Vet. Res.* 38:835-848.
- Benschop, J.; Hazelton, M. L.; Stevenson, M. A.; Dahl, J.; Morris, R. S.; French, N. P. (2008). Descriptive spatial epidemiology of subclinical *Salmonella* infection in finisher pig herds: application of a novel method of spatially adaptive smoothing. *Vet. Res.* 39:02.
- Benschop, J.; Spencer, S.; Alban, L.; Stevenson, M.; French, N. (2010). Bayesian zero-inflated predictive modeling of herd-level *Salmonella* prevalence for risk-based surveillance. *Zoonoses Public Health*. 57(1):60-70.
- Berends B.R.; Urlings, H.A.P.; Snijders J.M.A.; and Van Knapen F. (1996). Identification and quantification of risk factors animal management and transport regarding in *Salmonella spp.* in pigs. *Int. J. Food Microbiol.* 30:37-53.
- Berends B.R.; Van Knapen F.; Mossel D.A.A.; Burt S.A.; Snijders J.M.A. (1998). Impact on human health of *Salmonella spp.* on pork in the Netherlands and the anticipated effects of some currently proposed control strategies. *Int. J. Food Microbiol.* 44:219-229.
- Bergey, D; Holt, J.G. (1994). Group 5: Facultatively anaerobic gram-negative rods. *Genus Salmonella*. En: *Bergey`s Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins. Pp.186-187.
- BES (Boletín Epidemiológico Semanal). (2009a). Infecciones por *Salmonella* no tifoidea de origen humano en España. Sistema de Información Microbiológica. Años 2000-2008. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Ciencia e Innovación. *BES*. 17(17):193-204.

- BES (Boletín Epidemiológico Semanal). (2009b). Comentario epidemiológico de las Enfermedades de Declaración Obligatoria y Sistema de Información Microbiológica. España. Año 2008. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Ciencia e Innovación. *BES*. 17(14):157-168.
- BES (Boletín Epidemiológico Semanal). (2012). Comentario epidemiológico de las enfermedades de declaración obligatoria y sistema de información microbiológica. España. Año 2011. Servicio de Vigilancia Epidemiológica. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Economía y Competitividad. *BES*. 20(14):124-139.
- Biksi, I.; Lorincz, M.; Molnár, B.; Kecskés, T., Takács, N.; Mirt, D.; Cizek, A.; Pejsak, Z.; Martineau, G. P.; Sevin, J. L.; Szenci, O. (2007). Prevalence of selected enteropathogenic bacteria in Hungarian finishing pigs. *Acta Vet. Hung.* 55:219-227.
- Binter, C.; Straver, J.M.; Häggblom, P.; Bruggeman, G.; Lindqvist, P.; Zentek, J.; Andersson, M.G. (2011). Transmission and control of *Salmonella* in the pig feed chain: A conceptual model. *Int. J. Food Microbiol.* 145: S7-S17.
- Bisha, B.; Brehm-Stecher, B.F. (2009). Simple Adhesive Tape-Based Sampling of Tomato Surfaces Combined with Rapid Fluorescence In Situ Hybridization for Detection of *Salmonella*. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 1450-1455.
- Bonafonte, M.A.; Solano, C., Sesma, B.; Alvarez, M.; Montuenga, L.; Garcia-Ros, D.; Gamazo, C. (2000). The relationship between glycogen synthesis, *Biofilm* formation and virulence in *Salmonella enteritidis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 191:31-36.
- Bowmer. (1965). *Salmonellae* in food-a Review. *J. Food Prot.* 28:74-86.
- Briggs, C.E; Fratamico, P.M. (1999). Molecular characterization of an antibiotic resistance gene cluster of *Salmonella typhimurium* DT104. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:846-849.
- Brown, M.H.; Baird-Parker, A.C. (1982). The microbiological examination of meat. En: *Meat microbiology*. M. H. Brown (ed.). Applied Science Publisher. London. Pp.423-520.
- Bryan, F.L.; Doyle, M.P. (1995). Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. *J. Food Prot.* 58:326-344.
- Buhr, R.J.; Richardson, L.J.; Cason, J.A.; Cox, N.A.; Fairchild, B.D. (2007). Comparison of four sampling methods for the detection of *Salmonella* in broiler litter. *Poult. Sci.* 86:21-25.

- CAPA (Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació). (2006). Código de buenas prácticas en explotaciones de porcino.
- Cardinale, E.; Tall, F.; Guèye, E.F.; Cisse, M.; Salvat, G. (2004). Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* infection in senegalese broiler-chicken flocks. *Prev. Vet. Med.* 63:151-161.
- Cardinale, E.; Maedder, S.; Porphyre, V; Debin, M. (2010). *Salmonella* in fattening pigs in Reunion Island: Herd prevalence and risk factors for infection. *Prev. Vet. Med.* 96:281-285.
- Carstensen, B.; Christensen, J. (1998). Herd size and sero-prevalence of *Salmonella enterica* in Danish pig herds: a random-effects model for register data. *Prev. Vet. Med.* 34:191–203.
- Carvajal, A.; Argüello, H.; Collazos, J.A.; García-Feliz, K; Rubio, P. (2010). Prevalencia de la salmonelosis en cerdos de cebo de España. *Mundo ganadero.* 225:24-27.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2000). Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks-United states, 1993-1997. U.S. Department of Health and Human Services. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*. 49:1-63.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2009). Surveillance report 2007. *Foodborne Active Disease Surveillance Network (Foodnet)*. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2011). CDC Estimates of Foodborne Illness in the United States. National Center for Emerging & Zoonotic Infectious Diseases. Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases. www.cdc.gov [Última consulta: 16 enero 2014].
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2012). www.cdc.gov/ [Última consulta: 8 octubre 2012].
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2013). Incidence and Trends of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food – Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 1996-2012. U.S. Department of Health and Human Services. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*. 59(14):418-422.
- Christensen, J.; Baggesen, D. L.; Nielsen, B.; Stryhn, H. (2002). Herd prevalence of *Salmonella* spp. in Danish pig herds after implementation of the Danish

Salmonella Control Program with reference to a pre-implementation study. *Vet. Microbiol.* 88:175-188.

- Clavero, M.R.; Monk, J.D.; Beuchat, L.R.; Doyle, M.P.; Brackett, R.E. (1994). Inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonellae*, and *Campylobacter jejuni* in raw ground beef by gamma irradiation. *Appl. Environ. Microbiol. Infect.* 60:2069-2075.
- Cogan, T.; Humphrey, T. (2003). The rise and fall of *Salmonella* Enteritidis in the UK. *J. Appl. Microbiol.* 94:114-119.
- Correia-Gomes, C.; Mendonca, D.; Vieira-Pinto, M.; Niza-Ribeiro, J. (2013). Risk factors for *Salmonella* spp in Portuguese breeding pigs using a multilevel analysis. *Prev. Vet. Med.* 108(2-3):159-166.
- Costerton, J.W.; Lewandowski, Z.; Caldwell, D.E.; Korber, D.R.; Lappin-Scott, H.M. (1995). Microbial *biofilms*. *Annu. Rev. Microbiol.* 49:711-745.
- Cotruba, Dafour, Ress, Bartram, Carr, Cliver, Craun, Fayer, Gammon. (2004). Waterborne Zoonoses. Eds. World Health Organization, Environmental Protection Agency, United States, and IWA Publishing. Pp.230-241.
- Craven, J.A.; Hurst, D.B. (1982). The effect of time in lairage on the frequency of *Salmonella* infection in slaughtered pigs. *J. Hyg. Camb.* 88:107-111.
- Creus, E.; Baucells, F.; and Mateu E. (2004a). *Salmonella* infection in a multiple-site swine production system in Catalonia. In: *Proceedings of the 18th International Pig Veterinary Society Congress*. Hamburg, Germany. Pp.675.
- Creus, E.; Baucells, F.; and Mateu E. (2004b). Prevalence of subclinical *Salmonella* infection and risk factors in finishing pig herds of Catalonia. In: *Proceedings of the 18th International Pig Veterinary Society Congress*. Hamburg, Germany. Pp.677.
- Creus, E. (2006). Puntos clave para el control de *Salmonella*: implicación de la alimentación animal. *Anaporc.* 33:34-42.
- Creus, E. (2007). Monitorización de *Salmonella* en porcino a nivel europeo. www.3tres3.com [Última consulta: 12 diciembre 2011].
- Creus, E.; Mainar-Jaime, R. C. (2010). Salmonelosis en las explotaciones porcinas. *Suis.* 68:40-48.
- Cucarella, C; Solano, C; Valle, J.; Amorena, B.; Lasa, I.; Penadés, J.R. (2001). Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in *biofilm* formation. *J. Bacteriol.* 183(99):2888-2896.

- D'Aoust, J.Y. (1991). Psychrotrophy and foodborne *Salmonella*. *Int. J. Food Microbiol.* 13:207-215.
- Dahl, J.; Wingstrand, A.; Nielsen, B.; Baggesen, D. L. (1997). Elimination of *Salmonella typhimurium* infection by the strategic movement of pigs. *Vet. Rec.* 140:679-681.
- Darwich, L.; Mateu, E.; Martín, M.; Torre, E.; Casal, J. (1999). Salmonelosis porcina en España, aparición de cepas con perfiles de multirresistencia a los agentes antimicrobianos. *Anaporc.* 195:5-16.
- Darwich, L.; de la Torre, E.; Frías, N.; García, P.J.; Peña, F.J.; Torre, E.; Mateu, E. (2000). Caracterización de cepas de *Salmonella* aisladas en porcino en Cataluña. *Laboratorio Veterinario.* 15:17-23.
- Davies, J. (1994). Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science.* 264(5157):375-382.
- Davies, P.R.; Morrow, W.E.; Jones, F.T.; Deen, J.; Fedorka-Cray, P.J.; Harris, I.T. (1997). Prevalence of *Salmonella* in finishing swine raised in different production systems in North Carolina, USA. *Epidemiol. Infect.* 119:237-244.
- Davies, P.R.; Bovee, F.G.E.M.; Funk, J.A.; Morrow, W.E.M.; Jones, F.T.; Deen, J. (1998). Isolation of *Salmonella* serotypes from feces of pigs raised in a multiple-site production system. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 212:1925-1929.
- Davies, P.R.; Funk, J.; Morrow, M. (1999). Fecal shedding of *Salmonella* by a cohort of finishing pigs in North Carolina. *Swine Health Prod.* 7(5):231-234.
- Davies, P.R.; Funk, J.A.; Morrow, W.E.M. (2000a). Fecal shedding of *Salmonella* by gilts before and after introduction to a swine breeding farm. *Swine Health and Production.* 1:25-29.
- Davies, P.R.; Turkson, P.K.; Funk, J.A.; Nichols, M.A.; Ladely, S.R.; and Fedorka-Cray, P.J. (2000b). Comparison of methods for isolating *Salmonella* bacteria from faeces of naturally infected pigs. *J. Appl. Microbiol.* 89:160-177.
- Davies R.H.; Wray, C. (1995). Observations on disinfection regimens used on *Salmonella* Enteritidis infected poultry units. *Poult. Sci.* 74:638-647.
- Davies R.H.; Wray, C. (1996a). Determination of an effective sampling regime to detect *Salmonella* Enteritidis in the environment of poultry units. *Vet. Microbiol.* 50:117-127.
- Davies R.H.; Wray, C. (1996b). Persistence of *Salmonella* Enteritidis in poultry units and poultry food. *Br. Poult. Sci.* 37:589-596.

- Davies R.H.; Wray, C. (1997). Distribution of *Salmonella* on 23 pig farms in the UK. *Proceedings of the 2nd International Symposium on Epidemiology and Control of Salmonella in Pork*. Copenhagen, Denmark. Pp.137-141.
- Davies, R.H.; McLaren, I.M.; Bedford, S. (1999). Observation on the distribution of *Salmonella* in a pig abattoir. *Vet. Rec.* 145:655-661.
- Davies, R.H.; Breslin, M. (2001). Environmental contamination and detection of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in laying flocks. *Vet. Rec.* 149:699-704.
- Davies, R.H.; Breslin, M.; Corry, J.E.L.; Hudson, W.; Wray, C. (2001). Observations on the distribution and control of *Salmonella* species in two integrated broiler companies. *Vet. Rec.* 149:227-232.
- Davies, R.H.; Breslin, M. (2003). Observations on *Salmonella* contamination of commercial laying farms before and after cleaning and disinfection. *Vet. Rec.* 152:283-287.
- De la Torre, E.; Zapata, D.; Tello, M.; Mejía, W.; Frias, N.; Garcia Pena, F. J.; Mateu, E. M.; Torre, E. (2003). Several *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype 4,5,12:i:- phage types isolated from swine samples originate from serotype typhimurium DT U302. *J. Clin. Microbiol.* 41:2395-2400.
- Decisión 2006/668/CE. Decisión de la Comisión de 29 de septiembre de 2006 relativa a una ayuda financiera de la Comunidad para un estudio de referencia sobre la prevalencia de *Salmonella* en cerdos de abasto que se llevará a cabo en los Estados miembros. *Diario Oficial de la Unión Europea*. L275/51-61.
- Decisión 2008/55/CE. Decisión de la Comisión de 20 de diciembre de 2007 relativa a una ayuda financiera de la Comunidad para un estudio de la prevalencia de *Salmonella* spp. y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en piaras de cerdos reproductores que se llevará a cabo en los Estados miembros. *Diario Oficial de la Unión Europea*. L14/10-25.
- Delhalle, L.; De Sadeleer, L.; Bollaerts, K.; Farnir, F.; Saegerman, C.; Korsak, N.; Dewulf, J.; De Zutter, L.; Daube, G. (2008). Risk factors for *Salmonella* and hygiene indicators in the 10 largest Belgian pig slaughterhouses. *J. Food Prot.* 71(7):1320-1329.
- Directiva 92/117/CEE del Consejo, de 17 de diciembre de 1992, relativa a las medidas de protección contra determinadas zoonosis y determinados agentes productores de zoonosis en animales y productos de origen animal, a fin de evitar el brote de infecciones e intoxicaciones procedentes de los alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*. L325/31-40.

- Directiva 2003/99/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 17 de noviembre de 2003, sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos y por la que se modifica la Decisión 90/424/CEE del Consejo y se deroga la Directiva 92/117/CEE del Consejo. *Diario Oficial de la Unión Europea*. L325/31-40.
- Domínguez, L.; Porrero, M.C.; Téllez, S. (2006). Salmonelosis porcina: situación epidemiológica actual. *Anaporc*, 33, 28-32.
- Doyle, M. P.; Erickson, M. C. (2012). Opportunities for mitigating pathogen contamination during on-farm food production. *Int. J. Food Microbiol.* 152(3):54-74.
- Dvorak, G. (2005). Disinfection 101. Center for Food Security and Public Health. Veterinary medicine. Iowa State University.
- ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). (2013). Annual epidemiological report. Reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence data. Surveillance report. Stockholm, *ECDC*.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2006). Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to “Risk assessment and mitigation options of *Salmonella* in pig production”. *The EFSA Journal*. 341:1-131.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2007). The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006. *The EFSA Journal*. 130:3-352.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2008). Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs, in the EU, 2006-2007. *The EFSA Journal*. 135:1-111.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2009). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in holdings with breeding pigs in the EU, 2008. *The EFSA Journal*. 7(12):1377.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2011). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. *The EFSA Journal*. 9(3):2090.
- EFSA (European Food Safety Authority) Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2012). Scientific Opinion on an estimation of the public health impact of

setting a new target for the reduction of *Salmonella* in turkeys. *The EFSA Journal*. 10(4):2616.

- EFSA (European Food Safety Authority). (2013). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. *The EFSA Journal*. 11(4):3129.
- ERS (Economic Research Service). (2011). Foodborne Illness Cost Calculator: *Salmonella*. United States Department of Agriculture. The Economics of Food, Farming, Natural Resources, and Rural America. www.ers.usda.gov Última actualización: 24/06/11. [Última consulta: 25 octubre 2011].
- Ethelberg, S.; Wingstrand, A.; Jensen, T.; Sorensen, G.; Müller, L.; Lisby, M.; Nielsen, E.M.; Molbak, K. (2008). Large outbreaks of *Salmonella* Typhimurium infection in Denmark in 2008. *Eurosurveillance*. 13(44):1-3.
- Euzéby, J.P. (2012). List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN). www.bacterio.cict.fr Última actualización: 08/09/12. [Última consulta: 10 septiembre 2012].
- Fablet, C.; Fravallo, P.; Jolly, J.P.; Eveno, E.; Madec, F.; Beloeil, P.A. (2003). Recherche des facteurs de risque de l'excrétion de *Salmonella entérica* par les porcs en croissance. Enquête épidémiologique analytique en élevage naisseur-engraisseur. *Epidemiol. Santé Animale*. 43:61-73.
- Fai, A. E. C.; De Figueiredo, E. A. T.; Verdin, S. E. F.; Pinheiro, N. M. S.; Braga, A. R. C.; Stamford, T. L. M. (2011). *Salmonella* sp e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. *Ciência & Saúde Coletiva*. 16(2):657-662.
- FAO (Food and Agriculture Organization) (2014). FAOSTAT. <http://faostat.fao.org> Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. [Última consulta: 14 enero 2014].
- Farmer, J.J.; Davis, B.R.; Hickman-Brenner, F.W.; McWhorter, A.; Huntley-Carter, G.P.; Asbury, M.A.; Riddle, C.; Wathen-Grady, H.G.; Elias, C.; Fanning, G.R. (1985). Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 21(1):46-76.
- Farzan, A.; Friendship, R.M.; Dewey, C.E.; Warriner, K.; Poppe, C.; and Klotins, K. (2006). Prevalence of *Salmonella* spp. on Canadian pig farms using liquid or dry-feeding. *Preventive Veterinary Medicine*. 73:241-254.

- Farzan, A.; Friendship, R.M. (2010). A clinical field trial to evaluate the efficacy of vaccination in controlling *Salmonella* infection and the association of *Salmonella*-shedding and weight gain in pigs. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 74:258–263.
- Farzan, A.; Friendship, R.M.; Dewey, C.E.; Poppe, C.; Funk, J. (2010). Evaluation of the risk factors for shedding *Salmonella* with or without antimicrobial resistance in swine using multinomial regression method. *Zoonoses Public Health*. 57(1):85-93.
- Fathpour, H; Emtiazi, G; Ghasemi, E. (2003). Cockroaches as reservoirs and vectors of drug resistant *Salmonella* spp. *Iran. Biomed. J.* 7(1):35-38.
- Feder, I.; Nietfeld, J.C.; Galland, J.; Yeary, T.; Sargeant, J.A.; Oberst, R.; Tamplin, M.L.; and Luchansky, J.B. (2001). Comparison of cultivation and PCR-Hybridization for detection of *Salmonella* in porcine faecal and water samples. *J. Clin. Microbiol.* 39:2477-2484.
- Fedorka-Cray, P.J.; Wipp, Sh.C.; Isaacson, R.E.; Nord. N.; Lager, K. (1994). Transmission of *Salmonella* Typhimurium to swine. *Vet. Microbiol.* 41:333-344.
- Fedorka-Cray, P.J.; Harris, D. L.; Wipp, S.C. (1997). Using isolated weaning to raise *Salmonella*-free swine. *Vet. Med.* 92:375-382.
- Fedorka-Cray R.J.; Gray T.J.; Wray C. (2000). *Salmonella* infections in pigs. In: Wray. C., Wray. A (eds.): *Salmonella in Domestic Animals*. CABI Publishing, Wallingford, UK. 191-207.
- Fernandez, V.; Velasco, J.; Benito, A.; Nieto, M. (2006). Salmonellosis Porcina: casos clínicos. *Anaporc.* 33:54-64.
- Fernandez-Cuenca, F. (2004). PCR Techniques for Molecular Epidemiology of Infectious Diseases. *Enfermedades infecciosas y Microbiología clínica.* 22(6):355-360.
- Fosse, J.; Oudot, N.; Rossero, A.; Laroche, M.; Federighi, M.; Seegers, H.; Magras, C. (2008). Contamination de produits primaires porcins par *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens* et *Salmonella enterica*. *Journées Recherche Porcine.* 40:55-60.
- Fosse, J.; Seegers, H.; Magras, C. (2009). Prevalence and risk factors for bacterial food-borne zoonotic hazards in slaughter pigs: A review. *Zoonoses Public Health.* 56:429-454.

- Franco, B.D.G.; Landgraf, M.; Destro, M.T.; Gelli, D. (2003). Foodborne diseases in Southern South America. En: M.D. Miliotis and J. Bier (eds.) *International handbook on foodborne pathogens*. New York, NY: Marcel Dekker. 733-743.
- Fravallo, P.; Rose, V.; Eveno, E.; Salvat, G.; Madec, F. (1999). Définition bactériologique du statut de porcs charcutiers vis-à-vis d'une infection par *Salmonella*. *Journées de la Recherche Porcine*. 31:383-389.
- Funk, J.A.; Davies, P.R.; Nichols, M.A. (2000). The effect of fecal sample weight on detection of *Salmonella* enteric in swine feces. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12:412-418.
- Funk, J.A.; Davies, P.R.; Nichols, M.A. (2001a). Longitudinal study of *Salmonella enterica* in growing pigs reared in multiple-site swine production systems. *Vet. Microbiol.* 83:45-60.
- Funk, J.A.; Davies, P.R.; Gebreyes, W. (2001b). Risk factors associated with *Salmonella enterica* prevalence in three-site swine production systems in North Carolina, USA. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 114(9-10):335-338.
- Funk, J.A. (2003). Pre-harvest food safety diagnostics for *Salmonella* serovars. Part 1. Microbiological culture. *J. Swine Health Prod.* 11:87-90.
- Funk, J.A.; Gebreyes, W.A. (2004). Risk factors associated with *Salmonella* prevalence on swine farms. *J. Swine Health Prod.* 12(5):246-251.
- García, B.; Latasa, C.; Solano, C.; Garcia-del-Portillo, F.; Gamazo, C.; Lasa, I. (2004). Role of the GGDEF protein family in *Salmonella* cellulose biosynthesis and *Biofilm* formation. *Mol. Microbiol.* 54:264-277.
- García-Feliz, C.; Collazos, J.A.; Carvajal, A.; Vidal, A. B.; Aladueña, A.; Ramiro, R.; de la Fuente, M.; Echeita, M. A.; Rubio, P. (2007). *Salmonella enterica* Infections in Spanish Swine Fattening Units. *Zoonoses Public Health*. 54:294–300.
- García-Feliz, C.; Carvajal, A.; Collazos, J.A.; Rubio, P. (2009). Herd-level risk factors for faecal shedding of *Salmonella enterica* in Spanish fattening pigs. *Prev. Vet. Med.* 91:130–136.
- Gebreyes, W. A.; Turner, M.B.; Funj, J.A.; Altier, C.; Davies, P.R. (1999). *Salmonella* prevalence, serotypes and patterns of antimicrobial resistance in cohorts of nursery and finishing pigs. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Epidemiology and Control of Salmonella in Pork*. Washington DC, USA, August 5 to 7, 1999. 250-251.
- Gebreyes, W. A.; Davies, P. R.; Turkson, P. K.; Morrow, W. E.; Funk, J. A.; Altier, C. (2004). *Salmonella enterica* serovars from pigs on farms and after slaughter

and validity of using bacteriologic data to define herd *Salmonella* status. *J. Food Prot.* 67:691-697.

- Gibson, H; Taylor, J.H.; Hall, K.E.; Holah, J.T. (1999). Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial *biofilms*. *J. Appl. Microbiol.* 87:41-48.
- González, M. (2009). Epidemiología de *Salmonella* spp. en una explotación porcina de fase I. Trabajo de investigación. Directores: Dr. D. Manuel Láinez Andrés y Dr. D. Santiago Vega García (trabajo no publicado).
- Gotter, V.; Klein, G.; Koesters, S.; Kreienbrock, L.; Blaha, T.; Campe, A. (2012). Main risk factors for *Salmonella*-infections in pigs north-western Germany. *Prev. Vet. Med.* 106(3-4):301-307.
- Gradel, K.O.; Jorgensen, J.Chr.; Andersen, J.S.; Corry, J.E.L. (2004). Monitoring the efficacy of steam and formaldehyde treatment of naturally *Salmonella*-infected layer houses. *J. Appl. Microbiol.* 96:613-622.
- Grafanakis, E.; Leontides, L.; Genigeorgis, C. (2001). Seroprevalence and antibiotic sensitivity of serotypes of *Salmonella enterica* in Greek pig herds. *Vet. Rec.* 148:407-411.
- Gray, J.T.; Fedorka-Cray, P.J.; Stabel, T.J.; Kramer, T.T. (1996). Natural transmission of *Salmonella choleraesuis* in swine. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:141-146.
- Guerrant, R.L. (1989). Infecciones por *Salmonella*. En: Braunwald, E.; Isselbacher, K.J.; Petersdorf, R.G.; Wilson, J.D.; Martin, J.B.; Fauci, A.S. *Harrison: Principios de Medicina Interna*. 11ª edición. Madrid. McGraw-Hill. Tomo I. 729-738.
- Hald, T.; Vose, D.; Wegener, H.C.; Koupeev, T. (2004). A Bayesian approach to quantify the contribution of animal-food sources to human salmonellosis. *Risk Analysis.* 24:255-269.
- Hamilton, D.; Bobbitt, J.; Dahl, J.; Coates, K.; Lester, S.; Pointon, A. (2000). Risk factors for within herds *Salmonella* infection of pigs in Australia. *Proceedings of the 16th International Pig Veterinary Society Congress*. Melbourne, Australia. P. 204.
- Hauser, E.; Tietze, E.; Helmuth, R.; Junker, E.; Blank, K.; Prager, R.; Rabsch, W.; Appel, B.; Fruth, A.; Malorny, B. (2010). Pork Contaminated with *Salmonella enterica* Serovar 4,[5],12:i:-, an Emerging Health Risk for Humans. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(14):4601-4610.

- Hauser, E.; Hebner, F.; Tietze, E.; Helmuth, R.; Junker, E.; Prager, R.; Schroeter, A.; Rabsch, W.; Fruth, A.; Malorny, B. (2011). Diversity of *Salmonella enterica* serovar Derby isolated from pig, pork and humans in Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 151(2):141-149.
- Henzler, D.J.; Opitz, H.M. (1992). The role of mice in the epizootiology of *Salmonella enteritidis* infection on chicken layer farms. *Avian Diseases.* 36:625-631.
- Hernández, M.; Herrera-León, S.; Luque, I.; Maldonado, A.; Reguillo, L.; Gómez-Laguna, J.; Astorga, R. (2013). *Salmonella* prevalence and characterization in a free-range pig processing plant: tracking in trucks, lairage, slaughter line and quartering. *Int. J. Food Microbiol.* 162(1):48-54.
- Heyndrickx, M.; vandekerchove, D; Herman, L.; Rollier, I.; Grijspeerdt, K.; De Zutter, L. (2002). Routes for *Salmonella* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiol. Infect.* 129:253-265.
- Holah, J.T.; Higgs, C.; Robinson, S.; Worthington, D.; Spenceley, H. (1990). A conducted-based surface disinfection test for food hygiene. *Let. Appl. Microbiol.* 11:225-259.
- Hoorfar, J.; Baggesen, D.L. (1998) Importance of pre-enrichment media for isolation of *Salmonella* spp. from swine and poultry. *FEMS Microbiol. Lett.* 169(1):125-130.
- Hotes, S; Kemper, N.; Traulsen, I.; Rave, G.; Krieter, J. (2010). Risk factors for *Salmonella* infection in fattening pigs - An evaluation of blood and meat juice samples. *Zoonoses Public Health.* 57(1):30-38.
- Humphrey, T. (2000). Public health aspects of *Salmonella* infection. En: C. Wray and A. Wray (eds.). *Salmonella in Domestic Animals.* Wallingford, UK. CABI Publishing. 245-262.
- Hurd, H. S.; Schlosser, W. D.; Ebel, E. D. (1999). The effect of intermittent shedding on prevalence estimation in population. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Epidemiology and Control of Salmonella in Pork.* Washington, DC, USA. Pp.60-65.
- Hurd, H.S.; Gailey, J.K.; McKean, J.D.; Rostagno, M.H. (2001). Rapid infection in market-weight swine following exposure to a *Salmonella* Typhimurium-contaminated environment. *Am. J. Vet. Res.* 62(8):1194-1197.

- Hurd, H.S.; McKean, J.D.; Griffith, R.W.; Wesley, I. V.; Rostagno, M.H. (2002). *Salmonella enterica* infections in market swine with and without transport and holding. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:2376-2381.
- Hurd, H.S.; McKean, J.D.; Griffith, R.D.; Rostagno, M.H. (2003). Estimation of the *Salmonella enterica* prevalence in finishing swine. *Epidemiol. Infect.* 132:127-135.
- ISO 6579:2002 (Anexo D). (2002). Microbiología de los alimentos para consumo humano y alimentación animal. Método horizontal para la detección de *Salmonella* spp. *International Organization for Standardization*. Ginebra, Suiza.
- Jorgensen, L.; Dahl, J.; Wingstrand, A. (1999). The effect of feeding pellets, meal and heat treatment on the *Salmonella* prevalence of finishing pigs. *Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork*. Washington, DC. Pp.308–312.
- Judicial Commission of the International Committee on Systematics of Prokaryotes. (2005). The type species of the genus *Salmonella* Lignieres 1900 is *Salmonella enterica* (ex Kauffmann and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987, with the type strain LT2^T, and conservation of the epithet *enterica* in *Salmonella enterica* over all earlier epithets that may be applied to this species. Opinion 80. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55, 519-520.
- Kanungo, S; Dutta, S.; Sur, D. (2008). Epidemiology of typhoid and paratyphoid fever in India. *J. Infect. Developing. Countries* 2(6):454-460.
- Kim, S.H.; Kim, S.; Chun, S.G.; Park, M.S.; Park, J.H.; Lee, B.K. (2008). Phage types and Pulsed-field Gel Electrophoresis patterns of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolated from humans and chickens. *J. Microbiol.* 46(2):209-213.
- Kinde, H.; Read, D.H.; Chin, R.P.; Bickford, A.A. (1996). *Salmonella* Enteritidis, phage type 4 infection in a commercial layer flock in southern California: bacteriologic and epidemiologic findings. *Avian Diseases*. 40(3):27-42.
- Kinde, H.; Castellan, D.M.; Kerr, D.; Campbell, J.; Breitmeyer, R.; Ardans, A. (2005). Longitudinal monitoring of two commercial layer flocks and their environments for *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and other *Salmonellae*. *Avian Diseases*. 49(2):189-194.
- Kjeldsen, N.J.; Dahl, J. (1999). The effect of feeding non-heat treated, nonpelleted feed compared to feeding pelleted, heat-treated feed on *Salmonella* prevalence of finishing pigs. *Proceedings of the 3rd International*

Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork. Washington, DC. Pp.313–316.

- Köfer, J.; Kleb, U.; Pless, P. (2006). The Styrian *Salmonella* Monitoring Programme for pork production. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health.* 53:209-212.
- Kranker, S.; Dahl, J.; Wingstrand, A. (2001). Bacteriological and serological examination and risk factors analysis of *Salmonella* occurrence in sow herds, including risk factors for high *Salmonella* seroprevalence in receiver finishing herds. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 114(9-10):350-352.
- Kranker, S.; Alban, L.; Boes, J.; and Dahl, J. (2003). Longitudinal study of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infection in three Danish farrow-to-finish swine herds. *J. Clin. Microbiol.* 41:2282-2288.
- Lambiri, M.; Mavridou, A.; Richardson, S.C.; Papadakis, J.A. (1990). Comparison of the TECRA *Salmonella* immunoassay with the conventional culture methods. *Letters in Applied Microbiology*, 11, 182-184.
- Lantz, A.W.; Brehm-Stecher, B.F.; Armstrong, D.W. (2008). Combined Capillary Electrophoresis and DNA-FISH for Rapid Molecular Identification of *Salmonella* Typhimurium in Mixed Culture. *Electrophoresis.* 29: 2477-2484.
- Lasa, I. (2004). *Biofilms bacterianos. Actualidad SEM* (Boletín Informativo de la Sociedad Española de Microbiología) 37(36):14-18. www.semicrobiologia.org [Última consulta: 17 noviembre 2011].
- Lasa, I; Del Pozo, J.L.; Penadés, J.R.; Leiva, J. (2005). *Biofilms bacterianos e infección. An. Sist. Sanit. Navar.* 28(2):163-175.
- Latasa, C; Agnès, R; Toledo-Arana, A; Ghigo, J.M.; Gamazo, C.; Penadés, J.R.; Lasa, I. (2005). Bap A, a large secreted protein required for *biofilm* formation and host colonization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Mol. Microbiol.* 58(5):1322-1339.
- Latasa, C; Solano, C.; Penadés, J.R.; Lasa, I. (2006). *Biofilm-associated proteins. C. R. Biol.* 329:849-857.
- Le Minor, L. and Popoff, M.Y. (1987). Request for an Opinion. Designation of *Salmonella enterica* sp. nov., nom. rev., as the type and Only Species of the Genus *Salmonella*. *Int. J. Syst. Evol. Bacteriol.* 37:465-468.
- Leriche, V.; Carpentier, B. (1995). Viable but nonculturable *Salmonella typhimurium* in single and binary-species *biofilms* in response to chlorine treatment. *J. Food Prot.* 58:1186-1191.

- Letellier, A.; Messier, S.; Paré, J.; Ménard, J.; Quessy, S. (1999). Distribution of *Salmonella* in swine herds in Québec. *Vet. Microbiol.* 67(4):299-306.
- Letellier, A.; Beauchamp, G; Guévremont, E; D`Allaire, S.; Hurnik, D; Quessy, S. (2009). Risk factors at slaughter associated with presence of *Salmonella* on hog carcasses in Canada. *J. Food Prot.* 72(11):2326-2331.
- Ley 8/2003, del 24 de abril, de Sanidad Animal. Boletín Oficial del Estado (BOE nº99) del 25 de Abril del año 2003. Pp. 16.006-16.031.
- Lo Fo Wong, D.M.A.; Dahl, J.; von Altrock, A.; Grafanaskis, S.; Thorberg, B.M.; van der Wolf, P.J. (1999). Herd-level risk factors for the introduction and spread of *Salmonella* in pig herds. In: *Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork*. Washington, D.C. 151-154.
- Lo Fo Wong, D.M.A.; Dahl, J.; Stege, H.; van der Wolf, P.J.; Leontides, L.; von Altrock, A.; Thorberg, B.M. (2001). Herd-level risk factors for subclinical *Salmonella* infection in European finishing pig herds. In: *Epidemiology and Control Options of Salmonella in European Pig Herds*. Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark. 141-161.
- Lo Fo Wong, D.M.A.; Hald, T.; Van der Wolf, P.J.; Swanenburg, M. (2002). Epidemiology and control measures for *Salmonella* in pigs and pork. *Livestock Production Science.* 76:215-222.
- Lo Fo Wong, D.M.A.; Dahl, J.; Stege, H.; Van der Wolf, P.J.; Leontides, L.; von Altrock, A.; and Thorberg, B.M. (2004). Herd-level risk factors for subclinical *Salmonella* infection in European finishing-pig herds. *Preventive Veterinary Medicine.* 62:253-266.
- Loynachan, A.T.; Harris, D.L. (2005). Dose determination for acute *Salmonella* infection in pigs. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(5):2753-2755.
- Lurette, A; Belloc, C.; Touzeau, S.; Hoch, T; Seegers, H.; Fourichon, C. (2007). Influence de l'efficacite de la decontamination des salles d'elevage sur la prevalence de portage de *Salmonella* dans les lots de porcs charcutiers issus d'un troupeau naisseur-engraisseur. *Epidémiol. et santé anim.* 52:41-48.
- MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente). (2012). Resultados de las encuestas de ganado porcino. Noviembre 2012. Secretaría General Técnica. Subdirección General de Estadística. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

- MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente). (2013). El sector de la carne de cerdo en cifras. Principales indicadores económicos en 2012. Subdirección general de productos ganaderos. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente). (2014). www.magrama.gob.es [Última consulta: 18 enero 2014].
- Mainar-Jaime, R. C.; Creus, E. (2010). Salmonelosis en las explotaciones porcinas. *Suis*. 67:53-58.
- Mallinson, E.T.; Miller, R.G.; Rezende, C.E.; Ferris, K.E.; de Graft-Hanson, J.; Joseph, S.W. (2000). Improved plating media for the detection of *Salmonella* species with typical and atypical hydrogen sulphide production. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 12:414-417.
- Malorny, B. and Hoorfar, J. (2005). Toward Standardization of Diagnostic PCR Testing of Fecal Samples: Lessons from the Detection of *Salmonellae* in Pigs. *J. Clin. Microbiol.* 43(7):3033-3037.
- Mannion, C.; Lynch, P.B.; Egan, J.; Leonard, F.C. (2007). Efficacy of cleaning and disinfection on pig farms in Ireland. *The Veterinary Record*. 161:371-375.
- MAPA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación) (2005). Guía de buenas prácticas de higiene para el control y prevención de *Salmonella* zoonótica. Madrid, abril 2005.
- Marin, C.; Hernandez, A.; Lainez, M. (2009). *Biofilm* development capacity of *Salmonella* strains isolated in poultry risk factors and their resistance against disinfectants. *Poult. Sci.* 88:424-431.
- Marin, C.; Balasch, S.; Vega, S.; Lainez, M. (2011). Sources of *Salmonella* contamination during broiler production in Eastern Spain. *Preventive Veterinary Medicine*. 98:39-45.
- Marin, C.; Lainez, M. (2009). *Salmonella* detection in faeces during broiler rearing and after live transport to the slaughterhouse. *Poult. Sci.* 88:1999-2005.
- MARM (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino). (2007). Memoria encuestas ganaderas. Resultados 2007. *MARM*.
- MARM (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino). (2008). www.mapa.es [Última consulta: 3 febrero 2009].
- MARM (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino). (2010). Resultados de las encuestas de ganado porcino. Mayo 2010. Secretaría General

Técnica. Subdirección General de Estadística. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

- Marthedal, H.E. (1960). *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Pullorum og *Salmonella* Typhimurium. Kulturelle, serologiske og epizootologiske undersøgelser samt studies over O-antigenstrukturen. *Thesis*. The Royal Veterinary and Agriculture University. Copenhagen, Denmark.
- Maskalyk, J. (2003). Typhoid fever. *JAMC. Canadian Medical Association or its licensors*. 169(2):132.
- Mateu, E.; Martín, M.; Darwich, L.; Mejía, W.; Frías, N.; García, F.J. (2002). Multiple drug resistance of *Salmonella* strains isolated from swine in Catalunya, Spain. *Veterinary Record*. 150:147-150.
- McCrea, B.; Tonooka, K.; Van Worth, C.; Boggs, C.; Atwill, E.; Schrandt, J. (2006). Prevalence of *Campylobacter* and *Salmonella* species on farm, after transport, and at processing in specialty market poultry. *Poult. Sci*. 85:136-143.
- McGlone, J.J.; Salak, J.L.; Lumpkin, E.A.; Nicholson, R.I.; Gibson, M.; and Norman, R.L. (1993). Shipping Stress and Social Status Effects on Pig Performance, Plasma Cortisol, Natural Killer Cell Activity, and Leukocyte Numbers. *J. Anim. Sci*. 71:888-896.
- Mead, P.S.; Slutsker, L.; Dietz, V.; McCraig, L.F.; Bresse, J.S.; Shapiro, C.; Griffin, P.M.; Tauxe, R.V. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis*. 5(5):607-625.
- Mejía, W.; Casal, J.; Zapata, D.; Sánchez, G.J.; Martín, M.; and Mateu, E. (2006). Epidemiology of *Salmonella* infections in pig units and antimicrobial susceptibility profiles of the strains of *Salmonella* species isolated. *Vet. Rec*. 159:271-276.
- Meriardi, G.; barigazzi, G.; Bonilauri, P.; Tittarelli, C.; Bonci, M.; D'Incau, M.; Dottori, M. (2008). Longitudinal study of *Salmonella* infection in italian farrow-to-finish swine herds. *Zoonoses Public Health*. 55(4):222-226.
- Miller, S.I.; Hohmann, E.L.; Peques, D.A. (1995). *Salmonella* (Including *Salmonella typhimurium*). En: Mandell, G.L.; Bennett, J.E.; Dolin, R. (eds.). *Mandell, Douglas and Benett's principles and practices of infectious disease*. Churchill Livingstone. New York, USA. Pp2013-2033.
- Mousing, J.; Jensen, P. T.; Halgaard, C.; Bager, F.; Feld, N.; Nielsen, B.; Nielsen, J. P.; Bech-Nielsen, S. (1997). Nation-wide *Salmonella enterica* surveillance and control in Danish slaughter swine herds. *Prev. Vet. Med*. 29:247-261.

- Mulder, R.W.A.W. (1995). Impact of transport and related stresses on the incidence and extent of human pathogens in pigmeat and poultry. *J. Food Safety*. 15:239-246.
- Mürmann, L.; Corbellini, L. G.; Collor, A. Á.; Cardoso, M. (2011). Quantitative risk assessment for human salmonellosis through the consumption of pork sausage in Porto Alegre, Brazil. *J. Food Prot.* 74(4):553-558.
- Nielsen, B.; and Baggesen, D.L. (1997). Update on laboratory diagnosis of subclinical *Salmonella* infections in pigs. *Proceedings 2nd International Symposium on Epidemiology and Control of Salmonella in Pork*. Copenhagen, Denmark. Pp. 19-25.
- Nietfeld, J. C.; Feder, I.; Kramer, T.T.; Schoneweis, D.; Chengappa, M. M. (1998). Preventing *Salmonella* infection in pigs with offsite weaning. *Swine Health Prod.* 6:27-32.
- Nollet, N.; Maes, D.; De Zutter, D.L.; Duchateau, L.; Houf, K.; Huysmans, K.; Imberechts, H.; Geers, R.; de Kruif, A.; Van Hoof, J. (2004). Risk factors for the herd-level bacteriologic prevalence of *Salmonella* in Belgian slaughter pigs. *Preventive Veterinary Medicine*. 65:63-75.
- Nollet, N.; Houf, K.; Dewulf, J.; De Kruif, A.; De Zutter, D.L.; Maes, D. (2005a). *Salmonella* in sows: a longitudinal study in farrow-to-finish pig herds. *Vet. Res.* 36:645-656.
- Nollet, N.; Houf, K.; Dewulf, J.; Duchateau, L.; De Zutter, L.; De Kruif, A.; Maes, D. (2005b). Distribution of *Salmonella* strains in farrow-to-finish pig herds: a longitudinal study. *J. Food Prot.* 68:2012-2021.
- O'Connor, A. M.; McKean, J. D.; Beary, J. H.; Brockus, S. L. (2006). Prevalence of exposure to *Salmonella* spp in finishing swine marketed in Iowa. *Am. J. Vet. Res.* 67:829-833.
- Oliveira, C.J.B.; Carvalho, LF.O.S.; Fernandez, S.A.; Tavechio, A.T.; Menezes, C.C.P.; Domínguez, F.J. (2002). Dunging gutter filled with fresh water in finishing barns had no effect on the prevalence of *Salmonella enterica* on Brazilian swine farms. *Preventive Veterinary Medicine*. 55:173-178.
- Oliveira, C.J.; Carvalho, L. F.; Fernandes, S. A.; Tavechio, A.T.; Domingues, F.J. (2005). Prevalence of pigs infected by *Salmonella Typhimurium* at slaughter after an enterocolitis outbreak. *Int. J. Food Microbiol.* 105:267-271.

- Pérez, J.; Astorga, R.; Caracil, L.; Mendez, A.; Perea, A.; Sierra, M.A. (1999). Outbreak of salmonellosis in farmed European wild boars (*Sus scrofa ferus*). *Veterinary Record*. 145:464-465.
- Pires, A.F.; Funk, J.A.; Bolin, C.A. (2013). Longitudinal study of *Salmonella* shedding in naturally infected finishing pigs. *Epidemiol. Infect.* 141(9):1928-1936.
- Popoff, M.Y.; Bockemühl, J.; McWhorter-Murlin, A. (1992). Supplement nº35, to the Kauffmann-White scheme. *Res. Microbiol.* 143:807-811.
- Popoff, M.Y.; Bockemühl, J.; Hickman-Brenner, F.W. (1997). Supplement nº40, to the Kauffmann-White scheme. *Res. Microbiol.* 148(9):811-814.
- Popoff, M.Y.; Bockemühl, J.; Brenner, F.W.; Gheesling, L.L. (2001). Supplement nº44, to the Kauffmann-White scheme. *Res. Microbiol.* 152(10):907-909.
- Popoff, M.Y.; Le Minor, L. (1992). Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. Institute Pasteur, WHO Collaborating centre for reference and research on *Salmonella*. Paris, Francia.
- Popoff, M.Y.; Le Minor, L. (2001). Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. Institute Pasteur, WHO Collaborating centre for reference and research on *Salmonella*. Paris, Francia.
- Proux, K.; Houdayer, C.; Humbert, F.; Cariolet, R.; Rose, V.; Eveno, E.; Madec, F. (2000). Development of a complete ELISA using *Salmonella* lipopolysaccharides of various serogroups allowing to detect all infected pigs. *Vet. Res.* 31:481-490.
- Quesy, S.; Letellier, A.; and Nadeau, E. (1999). Risk factor associated with the presence of *Salmonella* in swine herds in Quebec. *Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork*. Washington, D.C. Pp. 165-168.
- Quesy, S.; Guevremont, E.; Beauchamp, G.; D`Allaire, S.; Fournaise, S.; Poppe, C.; Sanderson, T.; Letellier, A. (2005). Risk factors associated with presence of *Salmonella* in pigs in Canada. *Proceedings of the 6th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork*. California, USA. Pp. 16-18.
- Ramesh, N.; Joseph, S.W.; Carr, L.E.; Douglass, L.W.; Wheaton, F.W. (2002). Evaluation of chemical disinfectants for the elimination of *Salmonella* biofilms from poultry transport containers. *Poultry Science*. 81:904-910.

- Rajic, A.; Keenlside, J.; McFall, M.E.; Deckert, A.E.; Muckle, A.C.; O'Connor, B.P.; Manninen, K.; Dewey, C.E.; and McEwen, S.A. (2005). Longitudinal study of *Salmonella* species in 90 Alberta swine finishing farms. *Vet. Microbiology*. 105:47-56.
- Rajic, A.; O'Connor, B. P.; Deckert, A. E.; Keenlside, J.; McFall, M. E.; Reid-Smith, R. J.; Dewey, C. E.; McEwen, S. A. (2007). Farm-level risk factors for the presence of *Salmonella* in 89 Alberta swine-finishing barns. *The Canadian Journal of Veterinary Researc*. 71:264–270.
- Real Decreto 324/2000, de 3 de marzo, por el que se establecen normas básicas de ordenación de las explotaciones porcinas. Boletín Oficial del Estado (BOE nº58) del 8 de Marzo del año 2000. Pp. 1-13.
- Real Decreto 1940/2004, de 27 de septiembre, sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos. Boletín Oficial del Estado (BOE nº237) del 1 de Octubre del año 2004. Pp. 32.772-32.777.
- Reeves, M.W.; Evins, G.M.; Heiba, A.A.; Plikaytis, B.D.; and Farmer III, J.J. (1989). Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other *Salmonellae* as shown by multilocus enzyme electrophoresis and proposal of *Salmonella bongori* comb. Nov. *J.Clin. Microbiol*. 27:313-320.
- Reglamento (CE) nº 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 17 de noviembre de 2003, sobre el control de *Salmonella* y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos. Diario Oficial de la Unión Europea. L325/1-15.
- Reglamento (CE) nº 1003/2005 de la Comisión, de 30 de junio de 2005, por el que se aplica el Reglamento (CE) nº 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo con respecto al objetivo comunitario de reducción de la prevalencia de determinados serotipos de *Salmonella* en las manadas reproductoras de *Gallus gallus* y se modifica el Reglamento (CE) nº 2160/2003. Diario Oficial de la Unión Europea. L170/12-17.
- Reglamento (CE) nº 1168/2006 de la Comisión, de 31 de julio de 2006, por el que se aplica el Reglamento (CE) nº 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo con respecto al objetivo comunitario de reducción de la prevalencia de determinados serotipos de *Salmonella* en las gallinas ponedoras de la especie *Gallus gallus* y se modifica el Reglamento (CE) nº 1003/2005. Diario Oficial de la Unión Europea. L211/4-8.
- Reglamento (CE) nº 646/2007 de la Comisión, de 12 de junio de 2007, por el que se aplica el Reglamento (CE) nº 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo en cuanto al objetivo comunitario de reducción de la prevalencia de

Salmonella Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium en los pollos de engorde y se deroga el Reglamento (CE) nº 1091/2005. Diario Oficial de la Unión Europea. L151/21-25.

- Reglamento (CE) nº 584/2008 de la Comisión, de 20 de junio de 2008, por el que se aplica el Reglamento (CE) nº 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta al objetivo comunitario de reducción de la prevalencia de *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium en los pavos. Diario Oficial de la Unión Europea. L162/3-8.
- Reybrouck, G. (1999). Evaluation of the antibacterial and antifungal activity of disinfectants. En: Russell, A.D.; Hugo, W.B.; Ayliffe, G.A.J.A. (eds.). *Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization*. 3rd ed. Blackwell Science. London. Pp. 124-144.
- Rho, M-J.; Chung, M-S.; Lee, J-H.; Park, J. (2001). Monitoring of microbial hazards at farms, slaughterhouses and processing lines of swine in Korea. *J. Food Prot.* 64:1388-1391.
- Ricci, A.; Vio, P.; Cibir, V.; Mancin, M.; Amato, S.; Barco, L.; Marangon, S. (2005). Foodborne Pathogens Monitoring in Pigs in the Veneto Region of Italy. *Proceedings of the 6th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork*. California, USA. Pp. 19-23.
- Rose, N., Beaudeau, F.; Drouin, P.; Toux, J.Y.; Rose, V.; Colin, P. (1999). Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. *Preventive Veterinary Medicine*. 39(4):265-277.
- Rose, N., Beaudeau, F.; Drouin, P.; Toux, J.Y.; Rose, V.; Colin, P. (2000). Risk factors for *Salmonella* persistence after cleaning and disinfection in French broiler-chicken houses. *Preventive Veterinary Medicine*. 44:9-20.
- Rossel, R.; Rouillier, J.; Beloeil, P-A.; Chauvin, C.; Basta, F.; Crabos, J-P.; Theau-Audin, S. (2006). *Salmonella* en élevages de porcs du Sud-Ouest de la France: séroprévalence en fin d'engraissement et facteurs de risque associés. *Journées Recherche Porcine*. 38:371-378.
- Rostagno, M.H.; Hurd, H.S.; McKean, J.D.; Ziemer, C.J.; Gailey, J.K.; Leite, R.C. (2003). Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(8):4489-4494.
- Rothman, K. J. (2002). *Epidemiology. An introduction*. USA. Oxford University.

- Rowe, T.A.; Leonard, F. C.; Kelly, G.; Lynch, P. B.; Egan, J.; Quirke, A. M.; Quinn, P. J. (2003). *Salmonella* serotypes present on a sample of Irish pig farms. *Vet. Rec.* 153:453-456.
- Rubio, P. (2006). Infecciones por *Salmonella* en el cerdo. *Anaporc.* 33:44-52.
- Sanchez, J.; Dohoo, I.R.; Christensen, J.; Rajic, A. (2007). Factors influencing the prevalence of *Salmonella* spp. In swine farms: A meta-analysis approach. *Preventive Veterinary medicine.* 81:148-177.
- Sandberg, M.; Hopp, P.; Jarp, J.; Skjerve, E. (2002). An evaluation of the Norwegian *Salmonella* surveillance and control program in live pig and pork. *Int. J. Food Microbiol.* 72:1-11.
- Schroeder, C.M.; Zhao, C.; DebRoy, C.; Torcolini, J.; Zhao, S.; White, D.G.; Wagner, D.D.; McDermott, P.F.; Walker, R.D.; Meng, J. (2002). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine, and food. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(2):576-581.
- Shelobolina, E.S.; Sullivan, S.A.; O'Neill, K.R.; Nevin, K.P.; and Lovley, D.R. (2004). Isolation, characterization, and U(VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate- and U(VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(5):2959-2965.
- Sheridan, J.J. (1998). Sources of contamination during slaughter and measures for control. *J. Food Saf.* 18:321-339.
- Shulman, S.T.; Phair, J.P.; Peterson and Warren (1999). Enfermedades infecciosas. Ed.McGraw-Hill. Pp. 265-275.
- Silva, L. C.; Barroso, I. M. (2004). Regresión logística. Ed. La Muralla, S. A. Madrid. 173 págs.
- Silva, L. E.; Gotardi, C.; Schwarz, P.; Mostardeiro, P.; Vizzotto, R.; Kich, J. D.; Cardoso, M. I. (2003). *Salmonella* infection in a multiple-site swine production system in Brazil. *Proceedings of the 5th International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork.* Heraklion-Grete, Greece. Pp.250-252.
- Slader, J.; Dominguez, G.; Jørgensen, F.; McAlpine, K.; Owen, R.; Bolton, F.; Humphrey, T. (2002). Impact of transport crate reuse and of catching and processing on *Campylobacter* and *Salmonella* contamination of broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:713-719.

- Smid, J.H.; van Hoek, A.H.; Aarts, H.J.; Havelaar, A.H.; Heres, L.; de Jonge, R.; Pielaat, A. (2013). Quantifying the sources of *Salmonella* on dressed carcasses of pigs based on serovar distribution. *Meat Sci.* 96(4):1425-1431.
- Smith, T. (1891). Special report on the cause and prevention of swine plague. Results of experiments. U.S. Department of Agriculture. Bureau of animal industry. Washington: Government printing office. 166 págs.
- Smith, R.P.; Clough, H.E.; Cook, A.J.C. (2010). Analysis of meat juice ELISA results and questionnaire data to investigate farm-level risk factors for *Salmonella* infection in UK pigs. *Zoonoses Public Health.* 57(1):39-48.
- Smulders, F.J. (1987). Prospective for microbial decontamination of meat and poultry by organic acids with special reference to lactic acid. En: Ed. *Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry.* Amsterdam. Pp. 319-344.
- Solano, C.; García, B.; Valle, J.; Berasain, C.; Ghigo, J-M; Gamzo, C.; Lasa, I. (2002). Genetic analysis of *Salmonella enteritidis* biofilm formation: critical role of cellulose. *Molecular Microbiology.* 43(3):793-808.
- Stärk, K.D.C.; Wingstrand, A.; Dahl, J.; Mogelmoose, V.; Lo Fo Wong, D.M.A. (2002). Differences and similarities among expert opinions on *Salmonella enterica* dynamics in swine pre-harvest. *Preventive Veterinary Medicine.* 53:7-20.
- Stege, H.; Christensen, J.; Nielsen, J. P.; Baggesen, D. L.; Enoe, C.; Willeberg, P. (2000). Prevalence of subclinical *Salmonella enterica* infection in Danish finishing pig herds. *Prev. Vet. Med.* 44:175-188.
- Steinbach G.; Hartung M. (1999). Attempt to estimate the share of human *Salmonella* infections, which are attributable to *Salmonella* originating from swine. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 112(8):296-300.
- Suh, D. K.; Song, J. C. (2005). Prevalence of *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae* and *Salmonella* in swine herds. *J. Vet. Sci.* 6:289-293.
- Sutherland, M.A.; Niekamp, S.R.; Rodriguez-Zas, S.L.; and Salak-Johnson, J.L. (2006). Impacts of chronic stress and social status on various physiological and performance measures in pigs of different breeds. *J. Anim. Sci.* 84:588-596.
- Taylor, J.H.; Holah, J.T. (1996). A comparative evaluation with respect to the bacterial cleanability of a range of wall and floor surface materials used in the food industry. *J. Appl. Bacteriol.* 81:262-266.
- Tenover, F. C.; Arbeit, R. D.; Goering, R. V.; Mickelsen, P. A.; Murray, B. E.; Persing, D. H.; Swaminathan, B. (1995). Interpreting chromosomal DNA

restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* 33:2233-2239.

- Thomson, J. (2002). Colitis: Enteropatía proliferativa, Salmonelosis y Parásitos. Scottish Agricultural College. www.3tres3.com [Última consulta: 03 abril 2011].
- Thorns, C. J. (2000). Bacterial food-borne zoonoses. *Revue scientifique et technique Office international des epizooties.* 19(1):226-239.
- Threlfall, E.J., Frost, J.A.; Ward, L.R.; Rowe, B. (1994). Epidemic in cattle and humans of *Salmonella typhimurium* DT 104 with chromosomally integrated multiple drug resistance. *Vet. Rec.* 134(22):577.
- Tindall, B.J.; Grimont, P.A.D; Garrity, G.M.; and Euzéby, J.P. (2005). Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55:521-524.
- Van de Giessen. (1996). Thesis on epidemiology and control of *Salmonella enteritidis* and *Campylobacter* spp. in poultry flocks. *National Institute of public Health and Environment.* Bilthoven, The Netherlands.
- Van der Wolf, P.J.; Bongers, J.H.; Elbers, A.R.W; Franssen, F.M.M.C.; Hunneman, W.A.; van Exsel, A.C.A.; Tielen, M.J.M (1999). *Salmonella* infections in finishing pigs in The Netherlands: bacteriological herd prevalence, serogrup and antibiotic resistance of isolates and risk factors for infection. *Veterinary Microbiology.* 67:263-275.
- Van der Wolf, P.J.; Wolbers, W.B.; Elbers, A.R.W; van der Heijden, H.M.; Koppen, J.M.; Hunneman, W.A.; van Schie, F.W.; Tielen, M.J.M (2001a). Herd level husbandry factors associated with the serological *Salmonella* prevalence in finishing pig herds in the Netherlands. *Vet. Microbiol.* 78:205-219.
- Van der Wolf, P.J.; Elbers, A.R.; van der Heijden, H.M.; van Schie, F.W.; Hunneman, W.A.; Tielen, M.J. (2001b). *Salmonella* seroprevalence at the population and herd level in pigs in The Netherlands. *Vet. Microbiol.* 80:171-184.
- Van Poucke, L.S.G. (1990). *Salmonella-TEK*, a rapid screening method for *Salmonella* species in food. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:924-927.
- Van Winsen, R.L.; Lipman, L.J.A.; Biesterveld, S.; Urlings, H.A.P; Snijders, J.M.A.; and van Knapen, F. (2000). Mechanism of *Salmonella* reduction in fermented pig feed. *J. Sci. Food Agric.* 81:342-346.

- Van Winsen, R.L.; Keuzenkamp, D.; Urlings, H.A.P; Lipman, L.J.A.; Snijders, J.M.A.; Veheijden, J.H.M.; Van Knapen, F. (2002). Effect of fermented feed on shedding of Enterobacteriaceae by fattening pigs. *Vet. Microbiol.* 87:267-276.
- Vico, J. P.; Rol, I.; Garrido, V.; San Román, B.; Grilló, M. J.; Mainar-Jaime, R. C. (2011). Salmonellosis in Finishing Pigs in Spain: Prevalence, Antimicrobial Agent Susceptibilities, and Risk Factor Analysis. *J. Food. Prot.* 74(7):1070-1078.
- Vico, J. P.; Mainar-Jaime, R. C. (2012). Serological survey of *Salmonella* spp. infection in finishing pigs from northeastern Spain and associated risk factors. *Span. J. Agric. Res.* 10(2):372-382.
- Volk, W.A.; Benjamin, D.C.; Kadner, R.J.; Parsons, J.T. (1988). Microorganismos entericos y gramnegativos afines. *Salmonella*. En: *Microbiología médica*. 3ª edición. México. McGraw-Hill. Pp.403-428.
- Waddilove, A.E.J. (2008). The effect of *biofilms* in pig production. *DuPont Animal Health, Technical News Bulletin*. Sudbury, UK.
- Wales, a. D.; Cook, A. J.; Davies, R. H. (2011). Producing *Salmonella*-free pigs: a review focusing on interventions at weaning. *Vet. Rec.* 168(10):267-276.
- Waltma, W.D. (2000). En: *Wray. C., Wray. A (eds.): Salmonella in Domestic Animals*. CABI Publishing. Wallingford, UK. Pp. 355-372.
- Ward, L. R.; De Sa, J. D. H.; Rowe, B. (1987). A phage-typing scheme for *Salmonella enteritidis*. *Epidemiol. Infect.* 99:291-294.
- WHO (World Health Organization) (1980). Report of the WHO/WAVFH Round Table Conference on the Present Status of the *Salmonella* Problem (Prevention and Control). Bilthoven, The Netherlands. WHO/VPH/81.27.
- WHO (World Health Organization) (1983). Guidelines on prevention and control of salmonellosis. WHO/VPH/83.42.
- WHO (World Health Organization); FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2002). Evaluaciones de riesgos de *Salmonella* en huevos y pollos. En: Serie Evaluación de riesgos biológicos. Nº1. Ginebra, Suiza.
- WHO (World Health Organization) (2005). Drug-resistant *Salmonella*. Fact sheet nº139. Revised April 2005. www.who.int [Última consulta: 29 mayo 2011].
- Wilkins, W.; Rajic, A.; Waldner, C.; McFall, M.; Chow, E.; Muckle, A.; Rosengren, L. (2010). Distribution of *Salmonella* serovars in breeding, nursery, and grow-to-finish pigs, and risk factors for shedding in ten farrow-to-finish swine farms in

Alberta and Saskatchewan. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 74:81-90.

- Witte, W. (1998). Medical consequences of antibiotic use in agriculture. *Science*. 279(5353):996-997.
- Zheng, D.M.; Bonde, M.; and Sorensen, J.T. (2007). Associations between the proportion seropositive slaughter pigs and the presence of herd level risk factors for introduction and transmission of *Salmonella* in 34 Danish organic, outdoor (non-organic) and indoor finishing-pig farms. *Livestock Science*. 106:189-199.

8. GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AESAN	Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición
API	<i>Analytical Profile Index</i> (Índice Analítico de Perfil)
BES	Boletín Epidemiológico Semanal
BOE	Boletín Oficial del Estado
BPW	<i>Buffered Peptone Water</i> (Agua de Peptona Tamponada)
CCAA	Comunidades Autónomas
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> (Centros para el Control y Prevención de las Enfermedades)
CITA	Centro de Investigación y Tecnología Animal
ECDC	<i>European centre for Disease Prevention and Control</i> (Centro Europeo para el Control y Prevención de las Enfermedades)
EC/CE	<i>European Commission</i> / Comisión Europea
EE	Error estándar
EEUU	Estados Unidos
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i> (Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria)
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay</i> (Técnica de inmunoabsorcancia unida a enzimas)
EM	Estados Miembros
ERS	<i>Economic Research Service</i> (Servicio de Investigación de la Economía)
FAO	<i>Food and Agricultural Organization of the United Nations</i> (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)
FISH	<i>Fluorescence In Situ Hybridization</i> (Hibridización Fluorescente <i>In Situ</i>)
GDP/PIB	<i>Gross domestic product</i> / Producto Interior Bruto
IC	Intervalo de confianza

ISO	<i>International Organization for Standardization</i> (Organización Internacional para la Estandarización)
IVIA	Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias
LB	Lauria-Bertoni
LPS	Lipopolisacárido
M	Molar
MAGRAMA	Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente
MK	Müller-Kauffmann medium (Medio Müller-Kauffmann)
MSRV	<i>Modified Semisolid Rappaport-Vassiliadis</i> (Rappaport-Vassiliadis Semisólido Modificado)
n	Número de observaciones
ONU	Organización de las Naciones Unidas
P	Valor de probabilidad
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (Reacción en cadena de la polimerasa)
pH	Potencial de Hidrógeno
RVS	Rappaport-Vassiliadis Soja
S	<i>Salmonella</i>
spp.	<i>especies</i>
UE	Unión Europea
UFC	Unidad Formadora de Colonia
XLD	<i>Xylose Lysine Deoxicholate</i>
XLT	<i>Xylose Lysine Tergitol</i>
WHO/OMS	<i>World Health Organization</i> / Organización Mundial de la Salud
ZMP	<i>Zentrale Markt- und Preisberichtsstelle</i> (Sistema de Análisis de Precios del Mercado Central Alemán).

9. GLOSARIO DE FIGURAS Y TABLAS

9.1. GLOSARIO DE FIGURAS

Figura 1.1: Producción de cerdo a nivel mundial en 1970 (EFSA, 2006).....	18
Figura 1.2: Producción de cerdo a nivel mundial en 2011 (FAO, 2014).....	18
Figura 1.3: Porcentaje de producción de cerdo de los 10 países líderes en comparación con la producción mundial, así como el porcentaje de producción de cada uno de éstos en 2011 (FAO, 2014).....	20
Figura 1.4: Representación gráfica del porcentaje de producción de los 10 países líderes en comparación con el resto del mundo en 2011 (FAO, 2014).....	20
Figura 1.5: Principales exportadores de carne de cerdo a nivel mundial en 2012 (MAGRAMA, 2013).....	21
Figura 1.6: Principales importadores de carne de cerdo a nivel mundial en 2012 (MAGRAMA, 2013).....	22
Figura 1.7: Principales países consumidores de carne de cerdo a nivel mundial en 2012 (MAGRAMA, 2013).....	23
Figura 1.8: Representación gráfica del censo de cerdos de la UE en 2011 (FAO, 2014).....	24
Figura 1.9: Representación gráfica de la producción de carne de cerdo en la UE en 2011 (FAO, 2014).....	24
Figura 1.10: Representación gráfica de la exportación de carne de cerdo de la UE en 2012 (MAGRAMA, 2013).....	25
Figura 1.11: Principales destinos de las exportaciones porcinas de la UE en 2012 (MAGRAMA, 2013).....	26
Figura 1.12: Evolución del ganado porcino en España 1986-2012 (MAGRAMA, 2013).....	27
Figura 1.13: Distribución del ganado porcino en el territorio español en 2012 (MAGRAMA, 2012).....	28
Figura 1.14: Número de casos confirmados de zoonosis en humanos en la UE, 2011 (EFSA, 2013).....	34
Figura 1.15: Tasa de notificación de casos humanos de salmonelosis en la UE, 2008-2011 (EFSA, 2013).....	35
Figura 1.16: Número de casos confirmados de salmonelosis en humanos por mes y serotipo, base de datos Tessy de 23 EM, 2009 (EFSA, 2011).....	36

Figura 1.17: Distribución de los diez serotipos más comunes en humana en la UE, 2011 (EFSA, 2013).....	36
Figura 1.18: Tendencias de los microorganismos más relevantes causantes de infecciones gastrointestinales. Casos notificados al Sistema de Información Microbiológica. España 1989-2011 (BES, 2012).....	37
Figura 1.19: Distribución estacional de <i>S. Enteritidis</i> y <i>S. Typhimurium</i> . Sistema de Información Microbiológica. España, 2000-2008 (BES, 2009a).....	38
Figura 1.20: Distribución por grupo de edad y muestra de <i>Salmonella</i> . Sistema de Información Microbiológica. España, 2000-2008 (BES, 2009a).....	39
Figura 1.21: Distribución de los brotes alimentarios según el agente causal en la UE, 2011 (EFSA, 2013).....	42
Figura 1.22: Distribución de los vehículos asociados a los brotes alimentarios de fuerte evidencia causados por <i>Salmonella</i> en la UE, 2011 (EFSA, 2013).....	43
Figura 1.23: Distribución de los 10 serotipos de <i>Salmonella</i> spp. más frecuentes aislados en el cerdo y en la carne de cerdo en 2011 (EFSA, 2013).....	47
Figura 1.24: Ciclo epidemiológico de <i>Salmonella</i> spp. a lo largo de toda la cadena de producción de alimentos (Domínguez <i>et al.</i> , 2006).....	49
Figura 1.25: Prevalencia observada en los nódulos linfáticos de los cerdos sacrificados infectados con <i>Salmonella</i> , con un intervalo de confianza del 95%, en la UE y Noruega, 2006-2007 (EFSA, 2008).....	55
Figura 1.26: Prevalencia de explotaciones de abuelas positivas a <i>Salmonella</i> . Estudio de vigilancia de <i>Salmonella</i> de la UE, 2008 (EFSA, 2009).....	57
Figura 1.27: Prevalencia de explotaciones de producción de lechones (madres) positivas a <i>Salmonella</i> . Estudio de vigilancia de <i>Salmonella</i> de la UE, 2008 (EFSA, 2009).....	58
Figura 1.28: Correlación entre la prevalencia de explotaciones de abuelas positivas a <i>Salmonella</i> y la prevalencia de explotaciones de madres positivas a <i>Salmonella</i> . Estudio de vigilancia de la UE, 2008 (EFSA, 2011).....	59
Figura 1.29: Distribución geográfica de los principales serotipos de <i>Salmonella</i> identificados en España, 2003-2004 (Carvajal <i>et al.</i> , 2010).....	61
Figura 3.1: Esquema del plan de muestreo en cada explotación para el estudio de la limpieza y desinfección.....	91
Figura 3.2: Esquema del plan de muestreo en cada explotación durante el periodo de cebo.....	98

Figura 3.3: Esquema del plan de muestreo en cada explotación a lo largo del periodo de engorde.....	102
Figura 3.4: Esquema del plan de muestreo el día del transporte a matadero..	103
Figura 4.1: Detección de <i>Salmonella</i> a lo largo del periodo de estudio.....	124
Figura 4.2: Detección de <i>Salmonella</i> en las diferentes estaciones del año.....	125
Figura 4.3: Detección de <i>Salmonella</i> en diferentes muestras.....	127
Figura 4.4: Porcentaje de explotaciones positivas a <i>Salmonella</i> en los diferentes momentos de muestreo a lo largo del ciclo productivo de los 47 lotes de cerdos estudiados.....	130
Figura 4.5: Porcentaje de aislamiento de los serotipos más frecuentes en las muestras tomadas de las explotaciones de porcino.....	133
Figura 4.6: Porcentaje de muestras de heces positivas en cada lote durante el periodo de engorde.....	134
Figura 4.7: Porcentaje de aislamiento de los serotipos más frecuentes en las muestras tomadas de los lotes de cerdos.....	135
Figura 4.8: Porcentaje de aislamiento de los serotipos más frecuentes de las muestras de heces tomadas de los lotes de cerdos a lo largo del periodo de engorde.....	136
Figura 4.9: Porcentaje de aislamiento de los serotipos de <i>Salmonella</i> identificados en las muestras de heces de cerdos en la explotación antes del transporte y tras el transporte a matadero.....	137
Figura 4.10: Porcentaje de aislamiento de los serotipos más prevalentes en las muestras tomadas de los camiones que transportan a los animales al matadero.	138
Figura 4.11: Porcentaje de aislamiento de los serotipos más prevalentes en las muestras tomadas de las instalaciones de los mataderos.....	139
Figura 4.12: Porcentaje de la capacidad de desarrollo de <i>biofilm</i> de los serotipos de <i>Salmonella</i> aislados con mayor frecuencia de las muestras tomadas en las instalaciones de las explotaciones porcinas.....	141
Figura 4.13: Porcentaje de la capacidad de desarrollo de <i>biofilm</i> de las cepas de <i>Salmonella</i> aisladas de las muestras tomadas en las instalaciones de las explotaciones porcinas.....	142
Figura 4.14: Porcentaje de supervivencia de los serotipos de <i>Salmonella</i> aislados con mayor frecuencia de las muestras tomadas en las instalaciones de las explotaciones porcinas en estudio después de la limpieza y desinfección.....	143

Figura 4.15: Porcentaje de supervivencia de las cepas de <i>Salmonella</i> aisladas después de la limpieza y desinfección según el desinfectante utilizado en la explotación en estudio.....	144
---	------------

9.2. GLOSARIO DE TABLAS

Tabla 1.1: Desarrollo de la producción global de carne de cerdo entre 1970 y 2011 (FAO, 2014).....	19
Tabla 1.2: Incidencia anual estimada de salmonelosis (Thorns, 2000).....	32
Tabla 1.3: Estimación del coste que genera <i>Salmonella</i> spp. en EE.UU. (ERS, 2011).....	41
Tabla 4.1: Distancia de las explotaciones en estudio al núcleo urbano y otras explotaciones e instalaciones, y el valor- <i>P</i> obtenido tras el análisis de las diferentes distancias en relación con el estatus de contaminación de las heces de los cerdos a la salida de la explotación.....	117
Tabla 4.2: Características estructurales de las naves de las explotaciones en estudio, y el valor- <i>P</i> obtenido tras el análisis de las diferentes características en relación con el estatus de contaminación de las heces de los cerdos a la salida de la explotación.....	119
Tabla 4.3: Cuadro resumen de los tipos, momentos y lugares de colocación de los cebos utilizados a lo largo del periodo de crianza de los cerdos para la desratización. Además, el valor- <i>P</i> obtenido tras el análisis de las diferentes características en relación con el estatus de contaminación de las heces de los cerdos a la salida de la explotación.....	123
Tabla 4.4: Porcentaje de explotaciones positivas a <i>Salmonella</i> según las muestras recogidas el día de la salida a matadero del lote de cerdos y tras la limpieza y desinfección de la nave.....	126
Tabla 4.5: Porcentaje de explotaciones positivas a <i>Salmonella</i> según las muestras tomadas al mes y medio de cebo.....	128
Tabla 4.6: Porcentaje de explotaciones positivas a <i>Salmonella</i> según las muestras tomadas a los tres meses de cebo.....	129
Tabla 4.7: Porcentaje de explotaciones positivas a <i>Salmonella</i> según las muestras tomadas a la salida del lote de cerdos en estudio.....	129
Tabla 4.8: Porcentaje de explotaciones positivas a <i>Salmonella</i> para cada tipo de muestra según el momento de muestreo: después de la limpieza del lote anterior y entrada de los lechones, al mes y medio, a los tres meses y a la salida de los cerdos al matadero.....	131

Tabla 4.9: Relación entre el estatus de la explotación antes de la limpieza y desinfección, las muestras tomadas después de la limpieza y desinfección y el día de entrada de los lechones con el estatus de <i>Salmonella</i> del lote de cerdos para <i>Salmonella</i> al final del periodo de engorde.....	132
Tabla 4.10: Presencia de <i>Salmonella</i> en las muestras obtenidas de diferentes fuentes de contaminación de las explotaciones porcinas.....	140
Tabla 4.11: Capacidad de desarrollo de <i>biofilm</i> de las cepas de <i>Salmonella</i> aisladas en las muestras obtenidas de diferentes factores de riesgo durante el estudio de los lotes de cerdos.....	140

10. GLOSARIO DE IMÁGENES

Imagen 1.1: Carl Joseph Eberth.....	3
Imagen 1.2: Daniel Elmer Salmon.....	4
Imagen 1.3: Theobald Smith.....	4
Imagen 3.1: Ejemplo ilustrativo del interior de las explotaciones sometidas a estudio.....	89
Imagen 3.2: Toma de muestras de heces.....	92
Imagen 3.3: Toma de muestras de pienso del silo y de la tolva.....	92
Imagen 3.4: Toma de muestras de agua del depósito y del bebedero.....	93
Imagen 3.5: Toma de muestras de la superficie de los corrales.....	93
Imagen 3.6: Toma de muestras de la superficie del pasillo.....	94
Imagen 3.7: Toma de muestras de polvo.....	94
Imagen 3.8: Toma de muestras de botas de granjero.....	95
Imagen 3.9: Toma de muestras de superficie: tolva y bebedero.....	96
Imagen 3.10: Toma de muestras de <i>slats</i>	97
Imagen 3.11: Toma de muestras de heces.....	99
Imagen 3.12: Toma de muestras de moscas con trampas (imagen izquierda) y con tiras (imagen derecha).....	100
Imagen 3.13: Toma de muestras de roedores y análisis en el laboratorio.....	101
Imagen 3.14: Toma de muestras de la superficie del camión.....	103
Imagen 3.15: Ascensor del camión con heces.....	104
Imagen 3.16: Preenriquecimiento de las muestras con BPW.....	105
Imagen 3.17: Placas de agar MSR/V negativa y positiva, respectivamente.....	106
Imagen 3.18: Placa de agar XLT4 positiva.....	107
Imagen 3.19: Placa de agar nutritivo.....	107

Imagen 3.20: Fluorescencia tras la realización del MUCAP Test en una placa de agar nutritivo con colonias sospechosas de <i>Salmonella</i> spp.....	108
Imagen 3.21: Prueba de la ureasa positiva (<i>Salmonella</i> spp. negativa).....	108
Imagen 3.22: Confirmación de <i>Salmonella</i> spp. con test API-20.....	109
Imagen 3.23: Fluorescencia de colonias de <i>Salmonella</i> en una placa de agar calcofluor.....	110
Imagen 4.1: Distribución geográfica de las explotaciones porcinas de engorde sometidas a estudio en la Comunidad Valenciana.....	115

11. ANEXO 1: Encuesta epidemiológica

ENCUESTA PORCINO

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA EXPLOTACIÓN

1. LOCALIZACIÓN

MUNICIPIO: _____

PROVINCIA: _____

DISTANCIAS A:

	Km.	¿CUÁL? (y población)
NÚCLEO URBANO	_____ Km.	_____
OTRAS GRANJAS:		
DE CERDOS	_____ Km.	_____
DE POLLOS	_____ Km.	_____
DE GALLINAS	_____ Km.	_____
OTROS	_____ Km.	_____
VERTEDEROS	_____ Km.	_____
MATADEROS	_____ Km.	_____
PLANTAS DE TTO DE		
AGUAS RESIDUALES	_____ Km.	_____

¿POR DELANTE DE LA EXPLOTACIÓN, PASA UNA CARRETERA O CAMINO IMPORTANTE DE PASO?

SÍ NO

2. ORIENTACIÓN PRODUCTIVA

TIPO EXPLOTACIÓN:

INTENSIVA	<input type="checkbox"/>	EXTENSIVA	<input type="checkbox"/>		
SELECC/HIBRIDACIÓN	<input type="checkbox"/>	MULTIPLICACIÓN	<input type="checkbox"/>	CICLO CERRADO	<input type="checkbox"/>
PRODUCCIÓN LECHONES	<input type="checkbox"/>	TRANSICIÓN LECHONES	<input type="checkbox"/>	CEBO	<input type="checkbox"/>
LIBRE	<input type="checkbox"/>				
CON COOPERATIVA	<input type="checkbox"/>	NOMBRE:	_____		
CON INTEGRADORA	<input type="checkbox"/>	NOMBRE:	_____		

3. INFORMACIÓN SOBRE EL TITULAR

DEDICACIÓN EXCLUSIVA: SÍ NO

¿VISITA OTRAS GRANJAS CON ASIDUIDAD? SÍ NO ESPECIE: _____

AÑOS DE EXPERIENCIA EN LA ACTIVIDAD PORCINA: _____

4. OTRAS CARACTERÍSTICAS DE LA EXPLOTACIÓN

Nº DE TRABAJADORES (incluido empresario): _____

Nº DE AÑOS QUE TIENE LA EXPLOTACIÓN: _____

BIOSEGURIDAD DE LA EXPLOTACIÓN

5. ESTRUCTURALMENTE:

- ¿SE ACCEDE A LA GRANJA POR UN CAMINO ASFALTADO? SÍ NO
- ¿TIENE VALLADO PERIMETRAL? SÍ NO
- ¿EN BUEN ESTADO? SÍ NO
- ¿EXISTE UNA ÚNICA PUERTA DE ACCESO? SÍ NO ¿ESTÁ CERRADA? SÍ NO
- ¿EXISTE UN PARKING PERMANENTE? SÍ NO
- ¿ESTÁ FUERA DEL VALLADO PERIMETRAL? SÍ NO
- ¿ES LIMPIADO Y DESINFECTADO PERIÓDICAMENTE? SÍ NO
- ¿EL DEPÓSITO DE CADÁVERES SE ENCUENTRA DENTRO DEL VALLADO PERIMETRAL? SÍ NO
- ¿EL CAMIÓN DEL PIENSO ENTRA DENTRO DEL VALLADO PERIMETRAL? SÍ NO
- ¿EL CAMIÓN DE CARGA Y DESCARGA DE ANIMALES ENTRA DENTRO DEL VALLADO? SÍ NO
- ¿TIENE VADO SANITARIO? SÍ NO ¿CON DESINFECTANTE? SÍ NO
- ¿OTROS SISTEMAS DE DESINFECCIÓN DE VEHÍCULOS? SÍ NO ¿CUÁL? _____
- ¿SE LES APLICA SÓLO A LOS VEHÍCULOS QUE ENTRAN DENTRO DEL VALLADO? SÍ NO
- SUELO: ¿PERMITE UNA BUENA LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN? SÍ NO MATERIAL: _____
- ¿SE DETECTAN RESTOS DE HECEAS POR LOS ALREDEDORES DE LAS NAVES? SÍ NO
- ¿SE DETECTAN RESTOS DE PIENSO POR LOS ALREDEDORES DE LAS NAVES? SÍ NO

6. VISITAS:

- ¿SE RESTRINGE LA ENTRADA DE PERSONAS EN LA EXPLOTACIÓN? SÍ NO
- ¿EXISTE UN LIBRO DE VISITAS? SÍ NO
- ¿SE LES PROPORCIONA A LOS VISITANTES ROPA Y CALZADO DE LA GRANJA? SÍ NO
- ¿SE LAVA DESPUÉS DE SU USO? SÍ NO
- ¿SE TOMAN MEDIDAS ESPECIALES SI LOS VISITANTES PROCEDEN DE OTRA EXPLOTACIÓN PORCINA? SÍ NO ¿CUÁLES? _____

7. TRABAJADORES:

- ¿DISPONEN DE ROPA EXCLUSIVA DE LA EXPLOTACIÓN? SÍ NO
- ¿SE DUCHAN ANTES DE EMPEZAR A TRABAJAR? SÍ NO

INSTALACIONES

8. ALOJAMIENTO

	ATADAS	BOXES INDIVIDUALES	CORRAL (animales/m ²)	BOXES + GRUPO
MATERNIDAD				
CUBRICIÓN				
GESTACIÓN				

VERRACOS: SUPERFICIE/VERRACO _____

	Nº ANIMALES/GRUPO	m ²
TRANSICIÓN		
CEBO		

¿DISPONEN DE PATIO?

	SI	NO
CUBRICION		
GESTACION		
TRANSICION		
CEBO		

OBSERVACIONES:

¿DISPONEN DE BAÑO DE PIES?

	SI	NO
MATERNIDAD		
CUBRICION		
GESTACION		
TRANSICION		
CEBO		

PRODUCTO UTILIZADO:

9. SUELO

	HORMIGON	SLAT PARCIAL	SLAT TOTAL	MATERIAL SLAT	OTROS
MATERNIDAD					
CUBRICION					
GESTACION					
VERRACOS					
TRANSICION					
CEBO					

OBSERVACIONES:

10. TECHO Y PAREDES

	TECHO		PAREDES	
	MATERIAL	AISLAMIENTO	MATERIAL	AISLAMIENTO
MATERNIDAD				
CUBRICION				
GESTACION				
VERRACOS				
TRANSICION				
CEBO				

OBSERVACIONES:

ESTADO: BUENO REGULAR MALO

11. VENTILACIÓN

	NATURAL	FORZADA		OTROS
	VENTANAS	EXTRACTORES	INYECTORES	
MATERNIDAD				
CUBRICION				
GESTACION				
VERRACOS				
TRANSICION				
CEBO				

OBSERVACIONES:

12. SEPARADORES DE LOS CORRALES

	MURO	BARROTES	MATERIAL	OTROS
MATERNIDAD				
CUBRICION				
GESTACION				
VERRACOS				
TRANSICION				
CEBO				

OBSERVACIONES: _____

13. BEBEDEROS

	BEBEDERO CANAL	BEBEDERO CHUPETE	CAZOLETA		OTROS	MATERIAL
			ACCIONAMIENTO	DE NIVEL		
MATERNIDAD						
CUBRICION						
GESTACION						
VERRACOS						
TRANSICION						
CEBO						

OBSERVACIONES: _____

¿EL BEBEDERO ESTÁ DENTRO DEL COMEDERO? SÍ NO

¿TIENE Balsa de agua? SÍ NO CARACTERÍSTICAS: _____

¿TIENE DEPÓSITOS DE AGUA? SÍ NO MATERIAL: _____

14. COMEDEROS

	COMEDERO LINEAL	COMEDERO CON TOLVA		OTROS	MATERIAL
		TRADICIONAL	HOLANDESA		
MATERNIDAD					
CUBRICION					
GESTACION					
VERRACOS					
TRANSICION					
CEBO					

OBSERVACIONES: _____

SISTEMA DE DISTRIBUCIÓN MANUAL AUTOMÁTICA

SILOS: SÍ NO MATERIAL: _____ ¿CUÁNTOS POR FASE DE PRODUCCIÓN? _____

15. RESPECTO A LOS TRABAJADORES:

¿DISPONEN DE VESTUARIOS? SÍ NO

TIENEN: DUCHA LAVAMANOS ROPA DE RECAMBIO BOTAS LIMPIAS OTROS _____

¿EXISTE UN LAVAMANOS CON AGUA CALIENTE Y JABÓN A LA ENTRADA DE CADA UNIDAD?

SÍ NO ¿Y LIMPIABOTAS? SÍ NO ¿LO USAN? SÍ NO

¿EXISTE UN LAVAMANOS CON AGUA CALIENTE Y JABÓN A LA SALIDA DE CADA UNIDAD?

SÍ NO ¿Y LIMPIABOTAS? SÍ NO ¿LO USAN? SÍ NO

PRODUCCIÓN

16. DATOS PRODUCTIVOS:

¿CUÁL ES LA MEDIA DE DESTETADOS POR CERDA/AÑO? _____
 ¿CUÁL ES EL PORCENTAJE HABITUAL DE MORTALIDAD EN:
 MATERNIDAD _____ TRANSICIÓN _____ CEBO _____
 SISTEMA DE PRODUCCIÓN: POR LOTES CONTINUO
 TODO DENTRO TODO FUERA:

	CENSO
MATERNIDAD	
CUBRICION	
GESTACION	
VERRACOS	
TRANSICION	
CEBO	

	MATERNIDAD	CUBRICION	GESTACION	VERRACOS	TRANSICION	CEBO
SI						
NO						

17. TRANSICIÓN

PROCEDENCIA DE LOS LECHONES: ÚNICA EXPLOTACIÓN VARIAS EXPLOTACIONES
 DISTANCIA: _____ KM
 EDAD DE ENTRADA: _____ PESO ENTRADA: _____ Kg.
 DURACIÓN: _____ PESO DE SALIDA: _____ Kg.
 ¿SE REALIZA LA TRANSICIÓN POR FASES? SÍ NO

18. CEBADERO

PROCEDENCIA DE LOS LECHONES: ÚNICA EXPLOTACIÓN VARIAS EXPLOTACIONES
 DISTANCIA: _____ Km.
 EDAD DE ENTRADA: _____ PESO ENTRADA: _____ Kg.
 DURACIÓN CEBO: _____ PESO A SACRIFICIO: _____ Kg.

19. REPOSICIÓN:

¿CUÁL ES EL PORCENTAJE DE REPOSICIÓN ANUAL EN SU GRANJA? _____
 ORIGEN DE LAS CERDAS: PROPIO EXTERNO ¿CUÁL? _____
 ¿CONOCE EL *ESTATUS* SANITARIO DE LA/S GRANJA/S DE ORIGEN? SÍ NO
 RAZA DE LAS CERDAS: _____ EDAD: _____
 ¿REALIZAN CUARENTENA? SÍ NO ¿CUÁNTO TIEMPO DURA? _____
 ¿TOMAN MUESTRAS? SÍ NO ¿DE QUÉ? _____
 ¿EXISTE UNA SALA ESPECÍFICA DE CUARENTENA? SÍ NO
 ¿ESTÁ DENTRO DEL VALLADO PERIMETRAL? SÍ NO
 ¿HAY ALGÚN MÉTODO DE DESINFECCIÓN DE BOTAS A LA ENTRADA DE DICHAS SALAS?
 SÍ NO ¿FUNCIONA? SÍ NO
 ¿HAY ALGÚN MÉTODO DE DESINFECCIÓN DE BOTAS A LA SALIDA DE DICHAS SALAS?
 SÍ NO ¿FUNCIONA? SÍ NO

ALIMENTACIÓN

20. TIPO DE PIENSO

	HARINA	GRANULADO	MIGAJAS	SECA	HUMEDA	RESTRINGIDO	
MATERNIDAD						SI	NO
CUBRICIÓN						SI	NO
GESTACION						SI	NO
VERRACOS						SI	NO
TRANSICION						SI	NO
CEBO						SI	NO

OBSERVACIONES: _____

¿MEDICAN EL PIENSO O EL AGUA SISTEMÁTICAMENTE? SÍ NO

¿EN QUÉ FASES? _____

21. CARACTERÍSTICAS DEL PIENSO

EL PIENSO UTILIZADO ES: DE ORIGEN COMERCIAL
 DE ELABORACIÓN PROPIA, O ESPECIALMENTE PARA ELLOS
 MIXTA (comercial y otros) _____

¿CADA CUÁNTO TIEMPO SE REPONE EL PIENSO? _____

¿SE USAN ACIDIFICANTES EN LA DIETA (agua/pienso)?

	REPRODUCTORAS	TRANSICION	CEBO
SI			
NO			

¿EL PIENSO CONTIENE HARINAS DE PESCADO? SÍ NO

¿SE LIMPIAN LOS SILOS? SÍ NO ¿CADA CUÁNTO TIEMPO? _____

¿LOS SILOS ESTÁN PROTEGIDOS DE PÁJAROS Y OTROS ANIMALES? SÍ NO

¿LOS COMEDEROS Y SISTEMAS DE DISTRIBUCIÓN DEL PIENSO SON LIMPIADOS Y DESINFECTADOS REGULARMENTE? SÍ NO ¿PRODUCTOS UTILIZADOS? _____

22. CARACTERÍSTICAS DEL AGUA

PROCEDENCIA DEL AGUA: DE RED GENERAL DE POZO

¿HACEN CLORACIÓN DEL AGUA? SÍ NO ¿QUÉ SISTEMA UTILIZAN? _____

¿CADA CUÁNTO TIEMPO HACEN LA CLORACIÓN? _____

¿CADA CUÁNTO TIEMPO VERIFICAN LA POTABILIDAD DEL AGUA? _____

¿CÓMO SE HACE LA VERIFICACIÓN? _____

¿LOS DEPÓSITOS DE AGUA, TUBERÍAS Y BEBEDEROS SON LIMPIADOS Y DESINFECTADOS REGULARMENTE? SÍ NO ¿PRODUCTOS UTILIZADOS? _____

MANEJO

23. PERSONAL

- ¿EXISTE ROPA EXCLUSIVA DE TRABAJO? SÍ NO ¿Y CALZADO? SÍ NO
- ¿ES LAVADO Y DESINFECTADO REGULARMENTE? SÍ NO
- ¿SE LIMPIAN Y DESINFECTAN LAS BOTAS AL ENTRAR DE EDIFICIOS SEPARADOS? SÍ O
- ¿SE LIMPIAN Y DESINFECTAN LAS BOTAS AL SALIR DE EDIFICIOS SEPARADOS? SÍ O
- ¿SE LAVAN LAS MANOS DESPUÉS DE MANEJAR ANIMALES, CADÁVERES O MATERIAL CONTAMINADO CON HECEAS? SÍ NO
- ¿EXISTE UN ORDEN DE TRABAJO? (ej. Jóvenes → Viejos) SÍ NO
- ¿UTILIZAN MATERIAL DISTINTO EN CADA NAVE? SÍ NO

24. ANIMALES

- ¿SE DUCHA A LOS ANIMALES EN ALGUNA DE LAS FASES DE PRODUCCIÓN? SÍ NO
- ¿LOS ANIMALES RETRASADOS O ENFERMOS SE DEJAN EN UN ALOJAMIENTO SEPARADO? SÍ O
- ¿HASTA EL FINAL? SÍ NO SI NO, ¿DÓNDE SE METEN? _____
- ¿EXISTE UNA CORRIENTE ÚNICA DE MOVIMIENTO ENTRE LOTES? SÍ NO
- ¿DISPONE DE UN CIRCUITO SECUNDARIO PARA AGUA MEDICADA? SÍ NO

25. VEHÍCULOS

- ¿SE LIMPIAN Y DESINFECTAN LOS VEHÍCULOS PROPIOS QUE TRANSPORTAN ANIMALES CADA VEZ QUE SE CARGAN Y/O SE DESCARGAN ÉSTOS? SÍ NO
- ¿LOS VEHÍCULOS SON COMPARTIDOS CON OTRAS GRANJAS? SÍ NO
- ¿LA ZONA DE CARGA Y DESCARGA DEL CAMIÓN ES LIMPIADA Y DESINFECTADA CADA VEZ QUE SE CARGAN Y DESCARGAN ANIMALES? SÍ NO

26. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

- ¿EXISTE UN PLAN DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DETALLADO? SÍ NO
- ¿SE LES HA EXPLICADO A LOS TRABAJADORES? SÍ NO

MATERNIDAD:

- ¿SE LIMPIA DIARIAMENTE EL SUELO DE LAS MATERNIDADES? SÍ NO

CEBADERO:

- ¿CUÁNTO TIEMPO TARDA EN VACIARSE? _____
- ¿QUÉ SE HACE CON LAS COLAS DE CEBO? _____
- ¿CUÁNDO EMPIEZA LA LIMPIEZA? _____

VACÍO SANITARIO:

	MATERNIDAD	CUBRICION	GESTACION	VERRACOS	TRANSICION	CEBO
NO						
SI						
DIAS						

FOSAS DE PURINES:

¿CUÁNDO SE REALIZA EL VACIADO DE LAS FOSAS?

MATERNIDAD	CUBRICIÓN	GESTACIÓN	VERRACOS	TRANSICIÓN	CEBO

¿SE LIMPIAN LAS FOSAS EN CADA VACÍO SANITARIO?

	MATERNIDAD	CUBRICIÓN	GESTACIÓN	VERRACOS	TRANSICIÓN	CEBO
SI						
NO						

¿SE COMPRUEBA LA LIMPIEZA DE LA FOSA DE CADA NAVE ANTES DE LA DESINFECCIÓN?

SI NO

¿SE REALIZA DESPOBLACIÓN DE LA NAVE ENTERA ANTES DE LA LIMPIEZA? SI NO

¿SE APLICA INSECTICIDA TRAS LA DESPOBLACIÓN? SI NO

¿REALIZA LA LIMPIEZA PERSONAL DE UNA EMPRESA ESPECIALIZADA? SI NO

SISTEMA UTILIZADO PARA LIMPIAR: CEPILLO
 AGUA A PRESIÓN CALIENTE
 AGUA A PRESIÓN FRÍA
 OTROS _____

¿UTILIZAN DETERGENTE? SI NO ¿CUÁL? _____

¿SE LIMPIAN LOS VENTILADORES Y LAS VENTANAS? SI NO

¿SE REALIZA LIMPIEZA ESPECÍFICA DE COMEDEROS? SI NO ¿Y DE BEBEDEROS? SI NO

¿LAS REPARACIONES NECESARIAS SE REALIZAN DURANTE ESTE PERIODO DE LIMPIEZA? SI NO

¿COMPRUEBAN QUE NO QUEDEN RESTOS DE MATERIA ORGÁNICA TRAS LA LIMPIEZA? SI NO

¿ESPERAN A QUE SE SEQUE LA NAVE PARA REALIZAR LA DESINFECCIÓN? SI NO

¿QUÉ TÉCNICA UTILIZAN PARA DESINFECTAR? PULVERIZACIÓN
 NEBULIZACIÓN
 OTRA _____

¿QUÉ TIPO DE DESINFECTANTE UTILIZAN? _____

¿REALIZA LA DESINFECCIÓN PERSONAL DE UNA EMPRESA ESPECIALIZADA? SI NO

TRAS LA LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN: ¿COMPRUEBAN QUE NO SE HAYA QUEDADO NADA POR LIMPIAR O DESINFECTAR? SI NO

¿SE APLICA INSECTICIDA DESPUÉS DE LA LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN? SI NO

27. GESTIÓN DE MATERIAL DE DESECHO

¿LA FOSA DE PURINES DISTA < 200m DE LA EXPLOTACIÓN? SI NO

¿CADA CUÁNTO TIEMPO SE RETIRA EL PURÍN DE LA EXPLOTACIÓN? _____

¿DÓNDE SE ALMACENAN LOS CADÁVERES Y PLACENTAS? _____

¿LOS CONTENEDORES DONDE SE RECOGEN SON HERMÉTICOS E IMPERMEABLES? SI NO

¿LOS CONTENEDORES DISTAN < 200m DE LAS NAVES? SI NO

¿CON QUÉ FRECUENCIA SE RETIRAN LOS CADÁVERES DE LA EXPLOTACIÓN? _____

¿TIENE OTRA FORMA DE ELIMINACIÓN DE CADÁVERES? SI NO ¿CUÁL? _____

28. CONTROL DE ROEDORES Y PLAGAS

¿EXISTE VEGETACIÓN SILVESTRE ABUNDANTE EN EL TERRENO SIN EDIFICAR DE LA EXPLOTACIÓN? SÍ NO

¿SE MANTIENE EL LUGAR LIMPIO Y ORDENADO? SÍ NO

¿DURANTE LA RUTINA DIARIA SE COMPRUEBA QUE NO HAYAN RATAS, HECES DE PÁJAROS, ETC.? SÍ NO

¿HAY UN PROTOCOLO ESTABLECIDO PARA LA DESRATIZACIÓN? SÍ NO ¿CUÁL? _____

UTILIZAN: TRAMPAS CEBOS OTROS _____

¿QUÉ TIPO DE CEBO? _____

¿CUÁNDO LO COLOCAN? DURANTE EL VACÍO SANITARIO

DURANTE TODA LA CRIANZA

OTROS: _____

¿DÓNDE? _____

¿HACEN MANTENIMIENTO PREVENTIVO DE LAS INSTALACIONES PARA ROEDORES? SÍ NO

¿EXISTEN HUECOS POR DONDE ENTRAN LAS CONDUCCIONES DE PIENSO, AGUA, ETC. A LAS NAVES? SÍ NO

¿PROTECCIÓN ANTIHAVES EN VENTANAS? SÍ NO ¿EN BUEN ESTADO? SÍ NO

¿EXISTEN OTROS ANIMALES EN LA EXPLOTACIÓN? SÍ NO ¿CUÁLES? _____

PROGRAMA SANITARIO

29. VACUNACIONES

	AJEZSKY	PARVOVIROSIS	MAL ROJO	COLIBACILOSIS	CLOSTRIDIOSIS	RINITIS	OTRAS
MATERNIDAD							
CUBRICIÓN							
GESTACIÓN							
VERRACOS							
TRANSICIÓN							
CEBO							

OBSERVACIONES: _____

30. DATOS SANITARIOS

¿DIAGNOSTICA LAS PATOLOGÍAS QUE SUFREN SUS ANIMALES? SÍ NO

¿QUÉ MÉTODO UTILIZA? _____

¿UTILIZA SIEMPRE EL MISMO ANTIBIÓTICO? SÍ NO

¿ES EL VETERINARIO QUIÉN PRESCRIBE? SÍ NO

¿DIAGNOSTICA LAS CAUSAS DE MUERTE DE SUS ANIMALES? SÍ NO ¿CÓMO? _____

¿HAN PADECIDO ANTERIORMENTE ALGÚN BROTE DE SALMONELOSIS? SÍ NO

¿CUÁNTO TIEMPO HACE? _____ ¿CÓMO SE DIAGNOSTICÓ? _____

¿TRATAMIENTO? _____ ¿VÍA? PIENSO AGUA INYECTABLE

31. ESTADO DE LOS ANIMALES

¿SE OBSERVA UN MAL ESTADO DE LOS ANIMALES? SÍ NO

¿SE DETECTA CLARAMENTE LA PRESENCIA DE DIARREAS? SÍ NO

¿SE DETECTA ALGÚN SIGNO CLARO DE PATOLOGÍA RESPIRATORIA? SÍ NO

¿SE DETECTA ALGÚN SIGNO DE ARTRITIS? SÍ NO

Este documento se imprimió en Valencia, julio de 2014.

