

Universidad Cardenal Herrera-CEU

Departamento Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos



**Prevalencia de *Salmonella* spp. y
Campylobacter spp. a lo largo de la cadena de
sacrificio de porcino en mataderos de la
Comunidad Valenciana.**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:
María Carmen Chinillach Andreu

Dirigida por:
Clara Marín Orenga
Santiago Vega García

VALENCIA

2017

Prof. Dra. Clara Marín Orenga y Prof. Dr. Santiago Vega García, investigadores y profesores del Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad CEU Cardenal Herrera,

CERTIFICAN:

Que la memoria titulada “**Prevalencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. a lo largo de la cadena de sacrificio de porcino en mataderos de la Comunidad Valenciana**”, que, para aspirar al grado de Doctor en Veterinaria presenta Dña. María Carmen Chinillach Andreu, realizada bajo nuestra dirección en la Universidad CEU Cardenal Herrera, cumple las condiciones adecuadas para su aceptación como Tesis Doctoral, por lo que,

AUTORIZAN:

A la interesada a su presentación en la Facultad de Veterinaria de la Universidad CEU Cardenal Herrera.

Y para que conste a los efectos oportunos, se presenta la referida memoria, firmando el presente certificado en Valencia a 10 de enero de 2017.

Fdo. Dra. Clara Marín Orenga

Fdo. Dr. Santiago Vega García

AGRADECIMIENTOS

Nombrar en una sola página a todas las personas que me han ayudado, apoyado, soportado y escuchado durante estos años y que han hecho posible que esta tesis saliera adelante, sería imposible.

A todos GRACIAS por vuestra paciencia, por estar siempre a mi lado y por vuestros sabios consejos.

Especialmente a mi familia, a mis amigos que son parte de mi familia, a los amigos nuevos que he encontrado mientras realizaba esta tesis y que ya forman parte de mi vida, a mis directores de tesis, y por supuesto a mis compañeros veterinarios sin los cuales no hubiera sido posible realizar este trabajo.

"Tenemos la oportunidad de usar el don de nuestras vidas para hacer del Mundo un lugar mejor"

Jane Goodall.

RESUMEN.

Los microorganismos patógenos *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp., son los causantes de la mayoría de las notificaciones de enfermedades de origen alimentario en el ser humano (EFSA, 2015a). Ambos son zoonosis y presentan unas características epidemiológicas comunes: son enfermedades infecciosas intestinales, que afectan a toda la población y constituyen un grave problema para la Salud Pública.

La campilobacteriosis es la enfermedad zoonótica más frecuente desde el año 2005, principalmente relacionada con el consumo de carne de pollo. Tras la implantación de programas de control y sistemas de monitorización para la vigilancia de la *Salmonella* spp., en los últimos años, se ha podido constatar una disminución de la misma como agente etiológico implicado en toxiinfecciones alimentarias en la Unión Europea (UE). No obstante, no se puede obviar el hecho de que esta bacteria representa, después de la campilobacteriosis, la segunda causa de enfermedades zoonóticas en la UE, causando el 20% de los brotes de toxiinfección alimentaria (EFSA, 2015b).

Actualmente, no existen en España programas nacionales de vigilancia y control de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en cerdos, aunque sí que se han realizado numerosos estudios que han aportado información relevante sobre la situación en la que se encuentra la salmonelosis en ganado porcino. El control de la presencia de *Salmonella* spp. en canales de cerdo está recogido en la normativa vigente por medio del Reglamento de la Comunidad Europea (CE) nº 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Sin embargo, esta normativa no recoge ninguna actuación respecto a la presencia de *Campylobacter* spp. en canales de esta especie.

Por lo que respecta a *Campylobacter* spp., investigaciones sobre los niveles de contaminación de esta bacteria en las canales de pollo han podido confirmar que el microorganismo se encuentra presente en el producto final y por lo tanto puede llegar hasta el consumidor (Rosenquist *et al.*, 2006). En cuanto a las canales de porcino con contaminación por *Salmonella* spp. existen también estudios que demuestran que el microorganismo puede llegar hasta el producto final y por lo tanto al consumidor (Berends *et al.* 1998; Wegener *et al.*, 1994; EFSA, 2010a; Cai *et al.*, 2016). No hay que olvidar que la carne de cerdo, seguida de la de pollo son las carnes que más se consumen en el mundo (FAO, 2014), por lo que es de gran importancia el control de la posible presencia de estos patógenos en la carne de porcino y sus derivados.

El objetivo general de este estudio, es determinar la presencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en las canales porcinas durante el proceso de sacrificio en mataderos, identificando los puntos críticos que pueden influir en la contaminación de las mismas.

Durante el desarrollo del mismo se realizaron 21 visitas a 8 mataderos ubicados en la Comunidad Valenciana (CV), en cada sesión de muestreo se recogieron muestras de un único lote de cerdos elegido al azar para el estudio de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. En primer lugar, se tomaron 500 g de heces en distintos puntos de los corrales de espera donde descansaba el lote objeto de estudio. A continuación, se seleccionaron y marcaron de forma aleatoria 5 animales para posibilitar su seguimiento a lo largo de la cadena de procesado. Coincidiendo con la etapa de evisceración se recogieron en condiciones de asepsia cinco ciegos, pertenecientes a los individuos previamente identificados. Posteriormente, y antes de pasar a la etapa de enfriamiento, se obtuvieron muestras de la superficie de la cara externa del lado derecho de las canales.

Siguiendo la cadena de sacrificio se procedió a la obtención de las muestras de superficie tras la refrigeración, mediante el mismo procedimiento descrito con anterioridad, pero en este caso se muestreó el costado izquierdo de la canal de cada individuo. De forma paralela, para evaluar la presencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. se tomaron muestras en los diferentes útiles y equipos empleados en el faenado de las canales (cuchillos, flageladoras, mandil y guantes de trabajo). Por último, se recogieron 2 litros de agua del baño de escaldado. Todas las muestras se transportaron al laboratorio en condiciones de refrigeración para su análisis dentro de las 24 horas siguientes a su recogida. Para la detección de *Salmonella* spp., las muestras fueron analizadas según la norma ISO 6579:2002 (Anexo D) y las de *Campylobacter* spp. se realizaron de acuerdo a la norma ISO 10272-1:2006 (ISO, 2006a), las muestras de heces y ciegos se analizaron también de forma paralela por cultivo directo.

Nuestros resultados pusieron de manifiesto que del total de muestras analizadas (n=838), un 34,6% estaban contaminadas con alguno de los dos patógenos estudiados. Los animales que entraron en la cadena de sacrificio estaban infectados con ambos patógenos. Las muestras más contaminadas fueron los ciegos (58,2%), seguidos de las heces (54,8%) y las canales antes de la refrigeración (40,5%). Con una contaminación menor encontramos las superficies de los latiguillos (26,2%), operarios (21,4%), canal después de la refrigeración (17,1%) y cuchillos (11,9%). No se encontró ninguna muestra de agua de los tanques de escaldado positiva a ninguno de los dos patógenos, ni para *Salmonella* spp., ni para *Campylobacter* spp. En los resultados obtenidos independientemente de la bacteria analizada, las heces y los ciegos eran las muestras más contaminadas. Además, ponen de manifiesto que, aunque la etapa de refrigeración disminuye en gran medida la concentración de ambos patógenos ($P < 0,05$), la presencia de *Salmonella* spp. en el producto final, es mucho menor que en el caso de *Campylobacter* spp., siendo de 7,6% y 26,7%, respectivamente.

Dado que la campilobacteriosis es actualmente la zoonosis más frecuente a nivel mundial y que debido a las características de este patógeno existe la posibilidad de que este agente, (como ocurre en el caso del pollo) tenga la capacidad de llegar en el producto final al consumidor; consideramos de gran interés el estudio de la prevalencia de *Campylobacter* spp. en canales de porcino. Por otra parte, la importancia de este trabajo viene determinada porque no hemos encontrado otro estudio similar en la bibliografía, en el marco de la CV. Además, este estudio puede aportar datos sobre la presencia de este patógeno a lo largo de la cadena de sacrificio en el matadero de porcino y ayudar a determinar los puntos críticos que puedan influir en la contaminación de las canales por este agente.

Por otro lado, sí que existen numerosos trabajos de investigación sobre la presencia de *Salmonella* spp. en canales de porcino en España, estos mostraron en sus resultados una elevada prevalencia de *Salmonella* spp., como el 39,7% detectado por Argüello en las muestras de canales de cerdo de su estudio, esta contaminación se asoció tanto a la propia infección de los cerdos, como al transporte, al tiempo transcurrido en los corrales de espera y a la contaminación de las canales durante el proceso de sacrificio, demostrando un flujo continuo de *Salmonella* spp. en las instalaciones (Argüello *et al.*, 2012).

Si tenemos en cuenta las consideraciones anteriores, este trabajo demuestra que las operaciones del matadero pueden intervenir en la contaminación final de las canales, por lo que es necesario que los operadores de la industria alimentaria implanten medidas de control adecuadas, que deben estar basadas en unas buenas prácticas de higiene, así como en la implantación de un sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (**APPCC**). Este sistema debe incluir una identificación correcta de los puntos donde se puede producir la contaminación de las canales para poder reducir el riesgo de contaminación final del producto.

Por otro lado, se ha constatado también que los animales llegan al matadero infectados por ambos patógenos, por lo que sería conveniente implantar programas de bioseguridad en las explotaciones porcinas y buenas prácticas de higiene en la producción primaria, para de este modo, poder disminuir la prevalencia.

Consideramos que las estrategias para el control de ambos patógenos deben estar basadas en la combinación de ambas medidas de este modo se contribuiría de forma notable a disminuir la contaminación final en las canales de porcino y de esta forma, se controlaría también la posible llegada de estos patógenos al consumidor final.

ABSTRACT.

Pathogens *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp., cause the majority of notifications of foodborne diseases in humans (EFSA, 2015a). Both are zoonoses and epidemiological have common characteristics: they are intestinal infectious diseases, which affect the entire population and constitute a serious problem for public health.

Campylobacteriosis is the most common since 2005 zoonotic disease, mainly related to the consumption of chicken meat. Following the implementation of control programs and monitoring systems for surveillance of *Salmonella* spp., in recent years it has noted a decrease in the same etiologic agent involved in foodborne diseases in the European Union (EU). However, we cannot ignore the fact that this bacterium represents, after campylobacteriosis, the second leading cause of zoonotic diseases in the EU, causing 20% of food-borne outbreaks (EFSA, 2015b).

Currently, in Spain there are no national monitoring programs and control of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in pigs, although there have been numerous studies have provided important information about the situation where salmonellosis in pigs is done. Control of *Salmonella* spp. in pig carcasses is collected in current legislation by Regulation of the European Community (EC) n° 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria food products. However, this regulation does not collect any action regarding the presence of *Campylobacter* spp. in pig carcasses.

With respect to *Campylobacter* spp., research on the contamination levels of the bacteria on chicken carcasses were able to confirm that the microorganism is present in the final product and therefore can reach the consumer (Rosenquist *et al.*, 2006). As for pig carcasses with *Salmonella* spp. contamination studies showing that the microorganism can reach the final product and therefore the consumer (Wegener *et al.*, 1994; Berends *et al.*, 1998; EFSA, 2010a; Cai *et al.*, 2016) there too. Do not forget that pork, followed by chicken meat are most consumed in the world (FAO, 2014), so it is of great importance to control the possible presence of these pathogens in meat pork and its derivatives.

The overall objective of this study is to determine the presence of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in pig carcasses during slaughter in slaughterhouses, identifying the critical points that can influence the contamination thereof.

During the development of the 21 visits to 8 slaughterhouses located in Valencia (CV) at each sampling session they were made samples of a single batch of pigs randomly chosen for the study were collected *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. First, 500 g of faeces were taken at different points in holding pens where rested the lot under study. Then they were selected and marked 5 animals randomly to enable monitoring along the processing chain. Coinciding with the evisceration step were collected aseptically five cecum, belonging to the previously identified individuals. Later, before moving on to the chilling process, samples of the surface of the outer side of the right side of the carcasses were obtained.

Following the slaughter, he proceeded to obtain surface samples after chilling process, by the same procedure described above, but in this case the left side of each individual carcass sampled. In parallel, to assess the presence of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. samples at different accessories and equipment used in the dressing of carcasses (knives, rotating dehairing flails, apron and work gloves) were taken. Finally, 2 liters of scalding water were collected. All samples were transported to the laboratory in refrigerated conditions for analysis within the following collecting 24 hours. For the detection of *Salmonella* spp., the samples were analyzed according to the ISO 6579: 2002 (Annex D) and *Campylobacter* spp. were performed according to ISO 10272-1: 2006 (ISO, 2006a), faecal samples and cecal contents also they analyzed in parallel by direct culture.

Our results showed that the total samples analyzed (n = 838), 34.6% were contaminated with one of the two pathogens studied.

Animals that entered the slaughter were infected with both pathogens. The most contaminated samples were cecum (58.2%), followed by the faeces (54.8%) and the carcasses before chilling process (40.5%). With less contamination are the surfaces of the rotating dehairing flails (26.2%), workers (21.4%), carcasses after chilling (17.1%) and knives (11.9%). The scalding water samples were never positive to either pathogens, no *Salmonella* spp., or *Campylobacter* spp. was found. In the results regardless of the bacteria tested, faeces and the cecum were the most contaminated samples. Also show that, although the chilling process greatly decreases the concentration of both pathogens ($P < 0,05$), the presence of *Salmonella* spp. in the final product is much lower than in the case of *Campylobacter* spp. being 7, 6% and 26.7%, respectively.

Since campylobacteriosis is currently the most common worldwide zoonoses and due to the characteristics of this pathogen exists the possibility that this agent (as in the case of chicken) have the ability to reach the final product to the consumer. We consider of great interest to study the prevalence of *Campylobacter* spp. in pig carcasses. Moreover, the importance of this work is determined because we have not found another similar study in the literature, as part of the CV.

In addition, this study can provide data on the presence of this pathogen throughout the slaughter at the slaughterhouse pork and help determine the critical points that may affect the contamination of carcasses by this agent.

On the other hand, do exist numerous research on the presence of *Salmonella* spp. in pig carcasses in Spain, they showed in their results a high prevalence of *Salmonella* spp. on carcasses, as 39,7% detected by Argüello in samples taken on carcasses of his research study, this contamination was associated with own infection of pigs, and transport, the time spent in holding pens and contamination of carcasses during the slaughter process, showing a continuous flow of *Salmonella* spp. at the slaughter line (Argüello *et al.*, 2012).

If we take into account the above considerations, this work shows that the operations of the slaughterhouse may be involved in the final contamination of carcasses, so it is necessary that operators in the food industry to implement appropriate control measures, which should be based on a good hygiene practices and in the implementation of a system of Hazard Analysis and Critical Control Points (**HACCP**). This system must include proper identification of the points where contamination can occur carcasses to reduce the risk of end product contamination.

On the other hand, it has also found that the animals arrive at infected with both pathogens slaughterhouse, so it would be appropriate to implement biosecurity programs in pig farms and good hygiene practices in primary production, to thereby to reduce the prevalence.

We believe that strategies to control both pathogens should be based on the combination of both measures thus would contribute significantly to reduce the final pollution in pig carcasses and thus, also control the possible arrival of these pathogens to consumers.

INDICE.

1. INTRODUCCIÓN.	3
1.1. ASPECTOS GENERALES DE <i>Salmonella</i> spp.	3
1.1.1. Contexto histórico de <i>Salmonella</i> spp.	3
1.1.2. Características morfológicas y bioquímicas del género <i>Salmonella</i> spp.	3
1.1.3. Taxonomía.....	5
1.1.4. Detección, identificación y caracterización del género <i>Salmonella</i> spp.....	7
1.2. ASPECTOS GENERALES DE <i>Campylobacter</i> spp.	15
1.2.1. Contexto histórico de <i>Campylobacter</i> spp.....	15
1.2.2. Características Morfológicas y Bioquímicas del género <i>Campylobacter</i> spp.	16
1.2.3. Taxonomía.....	18
1.2.4. Detección, identificación y caracterización del género <i>Campylobacter</i> spp.....	18
2. ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS DE <i>Salmonella</i> spp. Y <i>Campylobacter</i> spp.....	27
2.1. <i>Salmonella</i> spp. Y <i>Campylobacter</i> spp. COMO CAUSANTES DE ZONOSIS, IMPACTO EN LA SALUD PÚBLICA.	27
2.1.1. Infección por <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. en el hombre.	29
2.1.2. Resistencias antimicrobianas.	30
2.1.3. Prevalencia de <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. en el hombre.	33
2.1.4. Alimentos implicados en brotes. Evaluación de la exposición.....	38
3. <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. EN EL SECTOR PORCINO.....	51
3.1. EL SECTOR PORCINO EN CIFRAS.	51
3.2. INFECCION POR <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. EN EL CERDO.	54
3.3. PREVALENCIA DE <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. EN PORCINO.	58
3.4. PROGRAMAS DE VIGILANCIA Y CONTROL DE ZONOSIS EN LA PRODUCCIÓN PRIMARIA MARCO LEGISLATIVO.	60
4. <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. EN LA CADENA ALIMENTARIA.....	65
4.1. CONTROL DE <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. EN LA CADENA ALIMENTARIA. MARCO LEGISLATIVO.	65
4.2. CONTROL DE <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. EN LA LÍNEA DE SACRIFICIO DE PORCINO (APPCC EN MATADEROS DE PORCINO).	68
5. OBJETIVOS.....	81

6. MATERIAL Y METODOS.	85
6.1. RECOGIDA DE DATOS DESCRIPTIVOS A TRAVÉS DE UNA ENCUESTA Y DETERMINACIÓN DE LA POSITIVIDAD DE <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. EN MATADEROS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA.	85
6.1.1. Selección de los mataderos.	85
6.1.2. Elaboración de encuestas.	86
6.1.3. Obtención de las muestras en matadero.	87
6.1.4. Procesado de las muestras.	91
6.1.5. Aislamiento de <i>Salmonella</i> spp.	91
6.1.6. Aislamiento de <i>Campylobacter</i> spp.	92
6.2. ANALISIS ESTADISTICO.	93
Recogida de datos descriptivos a través de una encuesta y determinación de la positividad de <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. en mataderos de la Comunidad Valenciana.	93
7. RESULTADOS.	97
7.1. CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO.	97
7.2. ANÁLISIS DE LAS ENCUESTAS.	97
7.3. ESTUDIO <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. EN LOS MATADEROS DE PORCINO DE LA COMUNIDAD VALENCIANA.	109
8. DISCUSIÓN.	117
8.1. PREVALENCIA DE <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. EN MATADEROS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA.	118
8.2. DETECCIÓN DE <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. EN MUESTRAS DE MATADEROS.	119
8.2.1. Detección de <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. en agua de escaldado.	120
8.2.2. Detección de <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. en muestras fecales (heces y ciegos).	121
8.2.3. Detección de <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. en muestras de superficies.	124
8.2.4. Detección de <i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp. en canales.	127
9. CONCLUSIONES.	133
10. BIBLIOGRAFÍA.	135
11. ANEXOS.	159
ANEXO 1.	161
Glosario de Abreviaturas.	161
ANEXO 2.	163
Glosario de Tablas.	163
ANEXO 3.	165

Glosario de Gráficos.....	165
ANEXO 4.....	167
Glosario de Imágenes.	167
ANEXO 5.....	167
Glosario de Ilustraciones.....	167
ANEXO 6.....	167
Glosario de Cuadros.	167
ANEXO 7. Tabla 23.....	168
ANEXO 8. Tabla 24.....	169
ANEXO 9. Reglamento (CE) nº2073/2005.....	170
ANEXO 10. Tablas 25 y 26.....	171
ANEXO 11. Gráfico 32.....	172
ANEXO 12. Tabla 27.....	173
ANEXO 13. Encuesta de mataderos.....	174

1. INTRODUCCIÓN.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. ASPECTOS GENERALES DE *Salmonella* spp.

1.1.1. Contexto histórico de *Salmonella* spp.

Los primeros datos que se conocen sobre *Salmonella* spp. se remontan a 1880 cuando el patólogo alemán **Carl Joseph Eberth** (1835-1926), mientras buscaba el bacilo tifoideo, observó esta bacteria en los cortes histológicos de bazo y ganglios linfáticos mesentéricos de personas fallecidas por la fiebre tifoidea, pasándose a llamar este bacilo *Eberthella typhosa*.

Posteriormente, **Daniel Elmer Salmon** (1850-1914) y **Theobald Smith** (1859-1934) aislaron, a partir de muestras tomadas en cerdos con peste porcina y mientras investigaban esta patología, *Salmonella Choleraesuis*. Pero no es hasta 1900 cuando el bacteriólogo **Joseph Léon Marcel Lignières** (1868-1933) sugiere que estas bacterias se denominen *Salmonella* spp., en honor a **Salmon** (Fresquet, 2002).

1.1.2. Características morfológicas y bioquímicas del género *Salmonella* spp.

El género *Salmonella* spp. lo integran bacterias pertenecientes a la Familia *Enterobacteriaceae*, Orden *Enterobacteriales* y Clase *Protobacteria* (Garrity *et al.*, 2004). Los miembros del género *Salmonella* spp. son bacilos gram-negativos, con un contenido guanina-citosina (G-C) de 50-53%, no productores de endosporas ni cápsula y móviles por la presencia de flagelos peritricos (a excepción del serotipo *Gallinarum* y de las variantes inmóviles de otros serotipos). *Salmonella* spp. es ubicua y con gran capacidad de adaptación, persistiendo en el medio ambiente en sustratos orgánicos durante meses o años (Schwartz, 1999), ya que es capaz de sobrevivir a refrigeración, congelación y ambientes secos. Su hábitat principal es el tracto intestinal del ser humano y de los animales, aunque su gran capacidad de adaptación hace que también puedan ser localizadas en el agua, los alimentos o el ambiente debido a contaminaciones fecales (Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), 2008a).

Las bacterias tienen forma de bacilo (Imagen 1) con un tamaño aproximado entre 0,7-1,5 µm de ancho y 2,0-5,0 µm de largo. Son anaerobias facultativas, su temperatura óptima de crecimiento está entre 35°C y 37°C y su tiempo de generación en esta temperatura se encuentra en torno a los 22 minutos (D'Aoust, 2000), también pueden crecer en un amplio rango de temperaturas desde los 10°C a 45°C. Entre 0°C y 5°C permanecen viables, aunque no hay crecimiento (ELIKA, 2013) según Droffner y Yamamoto (1992) algunas mutaciones pueden crecer a temperaturas superiores, en el rango de 48 y 54°C.



Imagen 1: *Salmonella* spp. Fuente: Taragui, 2005.

Por lo que respecta a la congelación, se observa una reducción del número de bacterias, pero no son eliminadas en su totalidad (D'Aoust, 1981). *Salmonella* spp. se puede destruir totalmente cuando se expone a temperaturas de 55°C por una hora, a 60°C durante 20 minutos, o bien cuando se cocinan los alimentos y estos alcanzan una temperatura interna comprendida entre los 74°C y 77°C.

En referencia al pH también son capaces de sobrevivir en un amplio rango comprendido entre 3,8 y 9,5. Valores por encima o por debajo impiden su supervivencia, siendo el pH óptimo para el crecimiento de *Salmonella* spp. el comprendido entre 6,5 y 7,5 valores próximos a la neutralidad (Baird-Parker, 1991; ELIKA, 2013).

Salmonella spp puede crecer en medios con actividad de agua (a_w) entre 0,94 y 0,99 aunque su valor óptimo para el crecimiento es de 0,995; también son capaces de multiplicarse en alimentos con valores de a_w inferiores a 0,93 (Cox, 1999; ELIKA, 2013).

En lo que respecta a las propiedades bioquímicas más destacadas de *Salmonella enterica* subs. *enterica* se muestran en la Tabla 1.

La mayor parte de las cepas de *Salmonella* spp. son anaerobias facultativas, utilizan citrato como única fuente de carbono y descarboxilan la lisina, la arginina y la ornitina. No fermentan la lactosa ni hidrolizan la urea. Toleran elevadas concentraciones de ácidos biliares y su crecimiento no resulta inhibido por la presencia de colorantes como el azul de metileno, el cristal violeta o el verde brillante. Producen sulfuro de hidrógeno, son catalasas positivas, reducen los nitratos a nitritos y su reacción es negativa en la prueba de la citocromo-oxidasa. La reacción de rojo de metilo es positiva y la prueba de indol es negativa. Los desinfectantes clorados, iodados y fenólicos, así como los ácidos orgánicos y las radiaciones gamma son eficaces para eliminar la *Salmonella* spp. (Clavero *et al.*, 1994; Rodrigues *et al.*, 2011).

Tabla 1: Pruebas bioquímicas para *Salmonella enterica* subesp. *enterica* (I). Fuente: elaboración propia con datos de García, 2011.

Prueba bioquímica	Reacción	Prueba bioquímica	Reacción
Motilidad	+	Glucosa (fermentación)	+
Reducción del nitrato	+	Manitol (fermentación)	+
Oxidasa	-	Maltosa (fermentación)	+
O/F	F	Lactosa (fermentación)	-
Hidrólisis de la urea	-	Adonitol (fermentación)	-
Indol	-	Dulcitol (fermentación)	+
Producción de H ₂ S	+	Sacarosa (fermentación)	-
Utilización de Citrato	+	Lisina decarboxilasa	+
Malonato sódico	-	Ornitina decarboxilasa	+
Crecimiento en KCN	-	Arginina dihidrolasa	+
Rojo de Metilo	+	Voges Proskauer	-
ONPG	-		

1.1.3. Taxonomía.

La clasificación de las bacterias englobadas dentro del género *Salmonella* ha sido desde hace años muy controvertida, actualmente la clasificación más extendida y aceptada es la que distingue dos especies en *Salmonella*: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* (Le Minor y Popoff, 1987).

En la actualidad, *S. enterica* se divide en seis subespecies (o subgrupos fenotípicamente distintos): *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) e *indica* (VI). La última clasificación de *Salmonella* mantiene la subsp. «V» para aquellos serovares incluidos en la especie *S. bongori* (Le Minor y Popoff, 1987; Brenner *et al.*, 2000; Grimont y Weill, 2007).

Se propuso una nueva especie en el género, *Salmonella subterránea* (Shelobolina *et al.*, 2004), pero el análisis de su secuencia de ADN ribosómico 16-S reveló ser muy similar al de *Salmonella bongori* y *Enterobacter cloacae*, por lo que trabajos posteriores no la han tenido en cuenta dentro del género (Grimont y Weill, 2007).

Las subespecies se dividen a su vez en serogrupos y serotipos en función de su fórmula antigénica, mediante la tipificación de los antígenos somáticos O, antígenos flagelares H y ocasionalmente los antígenos capsulares (Le Minor y Popoff, 1987). Las cepas de *Salmonella* spp. se clasifican en serotipos según la gran diversidad de los antígenos (O) del lipopolisacárido (LPS) y de los antígenos proteicos de los flagelos (H) según la primera clasificación propuesta por White en 1926, modificada por Kauffmann en 1941 (Popoff y Le Minor, 1992). Actualmente, tanto la Organización Mundial de la Salud (OMS) como los laboratorios de referencia se basan en el esquema denominado *Kauffmann-White* para la clasificación de las bacterias del género *Salmonella*.

Recientemente, Grimont y Weill (2007) han propuesto denominar a este sistema de clasificación esquema de fórmulas antigénicas de *Le Minor- Kauffmann-White* ya que gran parte de los serotipos descritos han sido identificados por Le Minor. En la actualidad, se reconocen aproximadamente 2.500 serotipos (OIE, 2008a).

La mayoría de los serotipos de *Salmonella* spp. con potencial patógeno están englobados en la subespecie enterica. Para esta subespecie, y con el fin de facilitar la transcripción como señala la OIE, está permitida la denominación clásica de los mismos (OIE, 2008a), que hace referencia al hospedador principal o al lugar donde se realizó el aislamiento por primera vez para su identificación. Además, para los miembros de esta subespecie se admite acortar la nomenclatura utilizando el nombre del género seguido del nombre del serotipo, sin cursiva y con la primera letra mayúscula (para indicar que no se trata de una especie). Así, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotipo Typhimurium puede identificarse directamente como *Salmonella* Typhimurium o *S.* Typhimurium. En cualquier caso, se recomienda que, si se emplea esta nomenclatura abreviada, la primera vez que se cite en un texto, el nombre del serotipo debe ir precedido por la palabra «serotipo» o por su abreviatura «ser». Para el resto de los miembros del género *Salmonella* se debe emplear la nomenclatura completa: género, especie, subespecie y serotipo designado mediante la fórmula antigénica.

En la Tabla 2 se muestran los distintos serotipos descritos para *Salmonella* spp. y sus principales hábitats.

Tabla 2: Número de serotipos descritos y principales hábitats para las diferentes especies y subespecies de *Salmonella* spp. Fuente: elaboración propia con datos de Argüello, 2013a.

Especies	Nº de serotipos incluidos	Principales hábitats
<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (I)	1.531	Animales de sangre caliente
<i>S. enterica</i> subsp. <i>salamae</i> (II)	505	Animales de sangre fría/caliente y medio ambiente
<i>S. enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> (IIIa)	99	Animales de sangre fría y medio ambiente
<i>S. enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb)	336	Animales de sangre fría y medio ambiente
<i>S. enterica</i> subsp. <i>houtenae</i>	73	Animales de sangre fría y medio ambiente
<i>S. enterica</i> subsp. <i>indica</i> (IV)	13	Animales de sangre fría y medio ambiente
<i>S. bongori</i>	22	Animales de sangre fría y medio ambiente
Total	2.579	

1.1.4. Detección, identificación y caracterización del género *Salmonella* spp.

1.1.4.1. Detección y aislamiento.

Para detectar *Salmonella* spp., disponemos de dos formas distintas de diagnóstico: una basada en métodos bacteriológicos o directos y otra en métodos inmunológicos o indirectos, dependiendo del objetivo del estudio a realizar se puede utilizar una técnica o ambas, ya que nos proporcionan informaciones distintas.

Habitualmente el diagnóstico de *Salmonella* spp. se basa en el aislamiento de este microorganismo a partir de la toma de muestras de heces, tejidos obtenidos en necropsias, frotis rectales o muestras ambientales, de productos alimenticios o de pienso. Sin embargo, el aislamiento y posterior determinación de la cepa de *Salmonella* depende de varios factores, en los que además de la calidad de la muestra, influye, el medio de cultivo empleado, así como de las características de crecimiento del serotipo, particularmente en aquellos casos en que están adaptados a una especie hospedadora. En primer lugar, es necesario realizar el aislamiento del microorganismo para posteriormente poder determinar el tipo de cepa aislada mediante la realización de pruebas bioquímicas y serológicas a los cultivos puros.

El diagnóstico, como hemos mencionado anteriormente, puede ser realizado por **métodos directos o métodos indirectos**. Dentro de los **métodos directos** se encontrarían el aislamiento bacteriológico y el diagnóstico molecular. Por su parte el **diagnóstico indirecto** incluiría técnicas como *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* o Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA, en sus siglas inglesas) o la técnica inmunoenzimática de detección de anticuerpos por medio de esferas y citometría. Posteriormente, la caracterización de la cepa de *Salmonella* spp. puede ser realizada por métodos fenotípicos (serotipado, fagotipado, espectrofotometría, etc.) o por métodos genotípicos como el Análisis de Secuencias *Multilocus* (MLST, en sus siglas inglesas), Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE, en sus siglas inglesas), Análisis de Variabilidad de Secuencias *Multilocus* (MLVA, en sus siglas inglesas) etc.

Diagnóstico por métodos directos.

- **Aislamiento bacteriológico.**

Los métodos tradicionales de cultivo bacteriológico siguen siendo los más utilizados para detectar *Salmonella* spp. Sin embargo, la reducida concentración de la bacteria en algunos tipos de muestras, hace necesario recurrir a métodos de enriquecimiento que aumenten la sensibilidad mediante la multiplicación de *Salmonella* spp. hasta concentraciones más fácilmente detectables en medios sólidos.

Para este proceso de enriquecimiento pueden emplearse diversos protocolos, pero con el fin de unificar criterios se ha desarrollado, entre otras, la norma ISO (6579: 2002). Esta norma permite trabajar con muestras tanto de heces como alimentos y piensos.

En la mayoría de los métodos de aislamiento bacteriológico se dan las siguientes fases: pre-enriquecimiento, enriquecimiento selectivo y aislamiento en un medio sólido selectivo.

1. **Pre-enriquecimiento:** este método se emplea cuando la muestra que va a ser analizada presenta un bajo número de bacterias o las bacterias han resultado dañadas debido a diferentes procesos como la congelación, descongelación, radiación etc.

Para esta etapa se utilizan medios como el agua de peptona tamponada (BPW, en sus siglas inglesas), el medio de enriquecimiento universal (UPB, en sus siglas inglesas) o el medio M9. Como características comunes de estos medios se destacaría la ausencia de azúcares fermentables y la capacidad tampón (Bailey y Cox, 1992). El tiempo de incubación se establece entre 18 y 24 horas a una temperatura de entre 35°C y 37°C, y es conveniente no superar este tiempo ya que podría darse una proliferación no deseada de otras bacterias competidoras (D'Aoust *et al.*, 1990).

2. **Enriquecimiento selectivo:** se utiliza con el objetivo de inhibir el crecimiento de la microbiota competidora, presente en grandes cantidades en las heces, y favorecer el crecimiento de *Salmonella* spp. hasta niveles en los que posteriormente pueda ser detectada en medios diferenciales. Para ello se utilizan diversos medios para realizar el enriquecimiento como el **caldo Tetrionato**, el **Rappaport- Vassiliadis** (RV, en sus siglas inglesas) (recomendada su utilización por la norma ISO 6579: 2002) y el caldo *selenito* (Waltman, 2000). El caldo *tetrionato* fue modificado con la adición de sales biliares, verde brillante y novobiocina dando lugar al **caldo Muller-Kauffman-Tetrionato** (MKT, en sus siglas inglesas). La temperatura para los medios de enriquecimiento tiene que oscilar entre los 41 y los 42°C, en ningún caso superar los 43°C, durante un periodo de 24 horas.

3. **Aislamiento en medio sólidos selectivos y diferenciales:** la particularidad que presentan estos métodos, más allá de inhibir el crecimiento de otras bacterias, radica en la capacidad de proporcionar a la colonia de *Salmonella* spp. de un aspecto característico gracias a la incorporación de diversas sustancias. Sin embargo, la eficacia de este método va a depender de lo eficaz que haya sido la anterior etapa de enriquecimiento. Los medios más utilizados son el **agar verde brillante** (BGS, en sus siglas inglesas), el **agar Rambach** (Ra, en sus siglas inglesas), el **agar Hektoen Enteric** (HE, en sus siglas inglesas), el **agar Xilosa-Lisina-Desoxichocolate** (XLD, en sus siglas inglesas) y el **agar Xilosa-Lisina-Tergitol 4** (XLT4, en sus siglas inglesas).

Según la Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos (EFSA, en sus siglas inglesas) la sensibilidad si se sigue el protocolo de la norma ISO 6579 anexo D para el aislamiento en heces de animales es del 87% (EFSA 2011b; EFSA, 2009b).

No obstante, existe una serie de factores que afectan la sensibilidad de las técnicas bacteriológicas, y que son necesarios tener en cuenta, como por ejemplo: el tipo de técnica elegida, el tipo de muestra, su ubicación, la técnica de muestreo (heces de superficie, de ciegos, muestras de alimentos) y la cantidad de muestra (peso y superficie), ya que a mayor cantidad de muestra y mayor superficie muestreada se observa mayor sensibilidad, también influye si se trata de muestras individuales o mezcla de varios individuos (parece ser que tanto la mezcla de heces como las muestras de canales de varios individuos con la misma gasa presentan una prevalencia superior a la estimada en las muestras individuales) (Arnold *et al.*, 2005; Sørensen *et al.*, 2007).

Otras posibles desventajas de este método pueden ser: su elevado coste, excesivo tiempo de aislamiento, y el tipo de muestra, como, por ejemplo, la posibilidad de falsos negativos a causa de la excreción intermitente en heces.

- **Diagnóstico molecular.**

Los diagnósticos moleculares se basan en la detección de proteínas y ácidos nucleicos, permitiendo acortar el tiempo y simplificar el proceso de diagnóstico y análisis, siendo una técnica sensible y específica (Löfström *et al.*, 2010). De estos métodos el más comúnmente empleado es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, en sus siglas inglesas), seguido de la técnica de hibridación directa. A pesar de sus ventajas, el mayor inconveniente que presenta este diagnóstico es que, frente a los métodos bacteriológicos, no permiten el aislamiento de la cepa.

1. PCR:

Una de las ventajas que plantea la PCR es la disminución del riesgo de que se produzca contaminación cruzada, así como el menor tiempo de análisis. Además, simplifica los protocolos, al unir las etapas de amplificación y detección en una única.

Dentro de la PCR se encuentran dos sistemas de detección en *real-time* PCR (Bustin, 2002). El primer sistema utiliza marcadores fluorescentes que se unen específicamente a la doble cadena de ADN. Fáciles de diseñar y más económicos, presentan la desventaja de ser más inespecíficos, lo que limita su uso.

El segundo sistema se basa en el empleo de sondas específicas marcadas y es más específico, eliminando la necesidad de confirmación del producto obtenido en la PCR (Löfström *et al.*, 2010).

2. Técnica de hibridación directa:

Esta técnica se fundamenta en la detección de una secuencia concreta a través de un oligonucleótido marcado en 3' con ácido polideoxiadenílico y otro oligonucleótido específico de una secuencia de ARN ribosómico de *Salmonella* spp. marcado en 5' con la enzima peroxidasa. Ambas sondas hibridarán con la secuencia complementaria en la molécula diana y podrán ser detectadas mediante un revelado (Argüello, 2013a).

Diagnóstico por métodos indirectos.

El diagnóstico indirecto se realiza por medio de técnicas serológicas que detectan anticuerpos desarrollados por el sistema inmunitario tras una exposición previa de la bacteria, basados en la unión antígeno-anticuerpo. Este sistema permite determinar el estado inmunológico de poblaciones, siendo de gran utilidad en programas de vigilancia en animales de producción para determinar la prevalencia de la infección.

- **ELISA:**

Conocidas como ELISA se agrupan un conjunto de técnicas inmunológicas utilizadas en la detección de anticuerpos contra *Salmonella* spp.

Se fundamentan en el tapizado de las placas con anticuerpos frente a diferentes antígenos flagelares y somáticos de *Salmonella* spp. (Ilustración 1). La lectura mediante un espectrofotómetro permite conocer la concentración de antígenos en sangre.

La respuesta que se obtiene para cada antígeno O es específica, por lo que se puede concretar el serotipo de *Salmonella* spp. que ha producido la infección.

Variando la presencia de antígenos somáticos se han desarrollado ELISAs diferentes, capaces de identificar *Salmonella* spp. de diversos serogrupos (Van der Heijden *et al.*, 1998; Proux *et al.*, 2000; Czerny *et al.*, 2001; Chow *et al.*, 2004).

El hecho de que los anticuerpos se puedan detectar durante 3-4 meses tras la infección (Van der Gaag *et al.*, 2001) permite que los ELISAs puedan caracterizar a los animales que, habiendo estado en contacto con la bacteria, pueden ser eliminadores intermitentes o portadores latentes, y que en el momento del muestreo no estén excretando la bacteria.

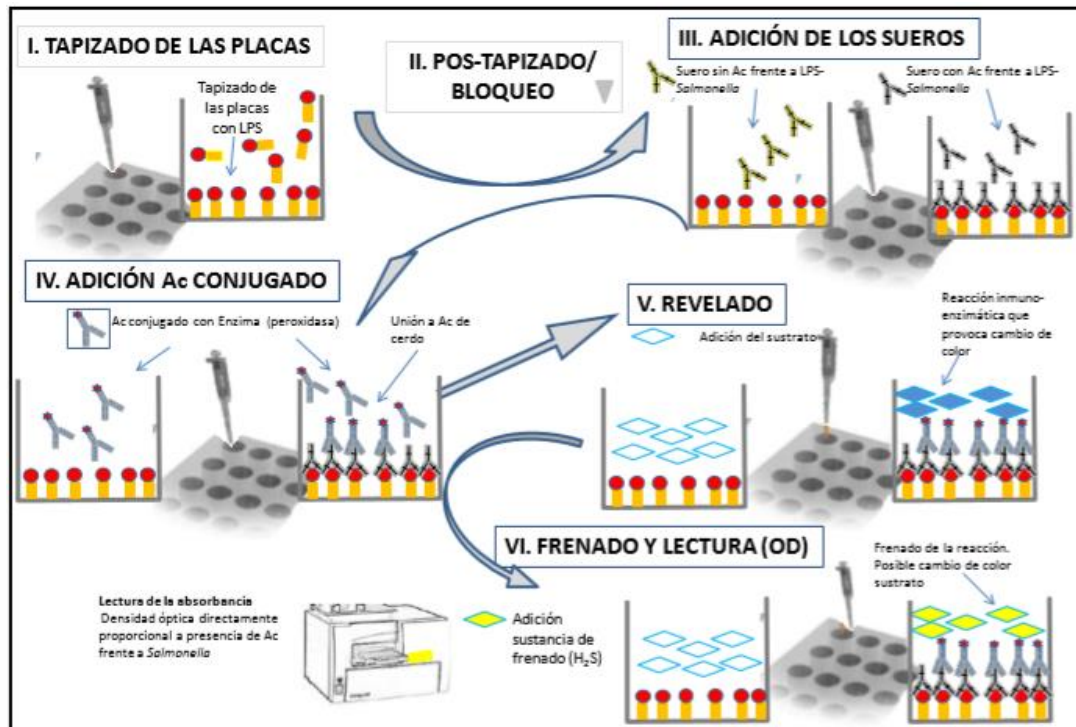


Ilustración 1: Etapas de un LPS-ELISA indirecto. Fuente: Argüello 2013a.

- **Técnica inmunoenzimática de detección de anticuerpos por medio de esferas de citometría de flujo.**

La técnica inmunoenzimática de detección de anticuerpos por medio de esferas de citometría de flujo se basa en la unión antígeno-anticuerpo (Bokken *et al.*, 2003). El principio de esta técnica radica en la unión de las cadenas O del LPS a esferas de diferentes tamaños, lo que permite diferenciar el serogrupo al que pertenecen los anticuerpos y realizar el análisis serológico de varias enfermedades en un mismo procesado.

Al igual que a las técnicas de diagnóstico directas, existen varios factores que afectan a los resultados de técnicas indirectas. Los factores más importantes a considerar son:

- El punto de corte seleccionado para el ELISA que determina la sensibilidad y la especificidad de la técnica, el momento de la infección ya que al basarse en la detección de anticuerpos existe un periodo de tiempo variable entre el momento de la infección y la producción de suficientes anticuerpos para poder ser detectados, estimado en unos dos meses en infecciones naturales (Kranker *et al.*, 2003).
- La inmunidad pasiva transmitida de madres a hijos por medio de la lactancia, el fallo en la seroconversión.
- La respuesta inmunológica a distintos serotipos (Collazos, 2008).

- El tipo de muestra, como por ejemplo suero o jugo de carne, y el fenómeno de reacciones cruzadas (Wiuff *et al.*, 2002).

Como principales ventajas se destaca el método automatizado, rápido, menos laborioso y que permite analizar un número elevado de muestras.

1.1.4.2. Identificación y caracterización.

Actualmente existen distintas técnicas para poder identificar y clasificar las bacterias del género *Salmonella* spp., imprescindibles a la hora de poder realizar un diagnóstico específico y completo.

Fenotipado.

Basándose en que el fenotipo es la expresión del genotipo, se trata de obtener resultados que permitan caracterizar las distintas especies de un mismo grupo de microorganismos basándose en distintas técnicas como:

- **Pruebas Bioquímicas:** Método API-20. Es un test colorimétrico, que se basa en el metabolismo bacteriano.
- **Serotipado:** es la técnica de caracterización más empleada, se trata de una técnica serológica utilizada para la identificación de la *Salmonella* spp., utilizando para ello antisueros específicos frente a los antígenos somáticos y flagelares que permitan detectar su composición antigénica de los microorganismos aislados mediante la aglutinación. La fórmula antigénica se escribe de la siguiente manera, usando el esquema de *Kauffmann-White*:

ANTIGENOS O, VI: FASE 1 DEL ANTIGENO H: FASE 2 DEL ANTIGENO H

- **Fagotipado:** consiste en diferenciar los distintos serotipos de *Salmonella* en función de sus patrones de sensibilidad frente a un determinado tipo de virus que afectan a bacterias y que son denominados bacteriófagos. Cada fago solo es capaz de infectar a una determinada bacteria hospedadora.
- **Antibioresistencia:** basado en las distintas resistencias a los antibióticos.
- **Espectrometría de masas MALDI_TOF (Desorción/ionización laser asistida por matriz-Tipo de tiempo de vuelo):** se trata de una técnica de ionización suave utilizada en espectrometría de masas. Esta técnica analítica instrumental de alta sensibilidad es capaz de identificar cuantitativamente y cualitativamente cualquier tipo de mezcla de sustancias y es muy utilizada para la identificación de microorganismos mediante el método de la huella peptídica.

Genotipado.

Se basa en el estudio de la información genética o genotipo de las bacterias, estas técnicas moleculares de tipificación han permitido el desarrollo de métodos más rápidos y con mayor discriminación que el aislamiento bacteriológico para la detección de la *Salmonella* spp., además permiten diferenciar cepas idénticas o muy parecidas fenotípicamente.

Las técnicas moleculares de tipificación están basadas en la PCR, una técnica que ha permitido reproducir en el laboratorio copias de un fragmento específico del ADN (Fernández-Cuenca, 2004).

Las técnicas moleculares más utilizadas son:

- **Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción (RLFP**, en sus siglas inglesas), que analizan fragmentos de restricción del ADN mediante electroforesis, en campo constante.
- **Análisis de Variabilidad de Secuencias Multilocus (MLVA**, en sus siglas inglesas), que detecta regiones variables de repeticiones conjuntas.
- **Análisis de Secuencias Multilocus (MLST**, en sus siglas inglesas), basada en el análisis comparativo de secuencias de fragmentos de genes.
- **Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PGFE**, en sus siglas inglesas), que analiza fragmentos de restricción ADN mediante electroforesis en campo pulsado.

La técnica para la tipificación molecular más utilizada en los laboratorios de referencia de la Unión Europea (UE) según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) es la técnica de PFGE (EFSA, 2009a).

En Ilustración 2 se muestra un cuadro resumen con las principales técnicas de tipificación de *Salmonella* spp.

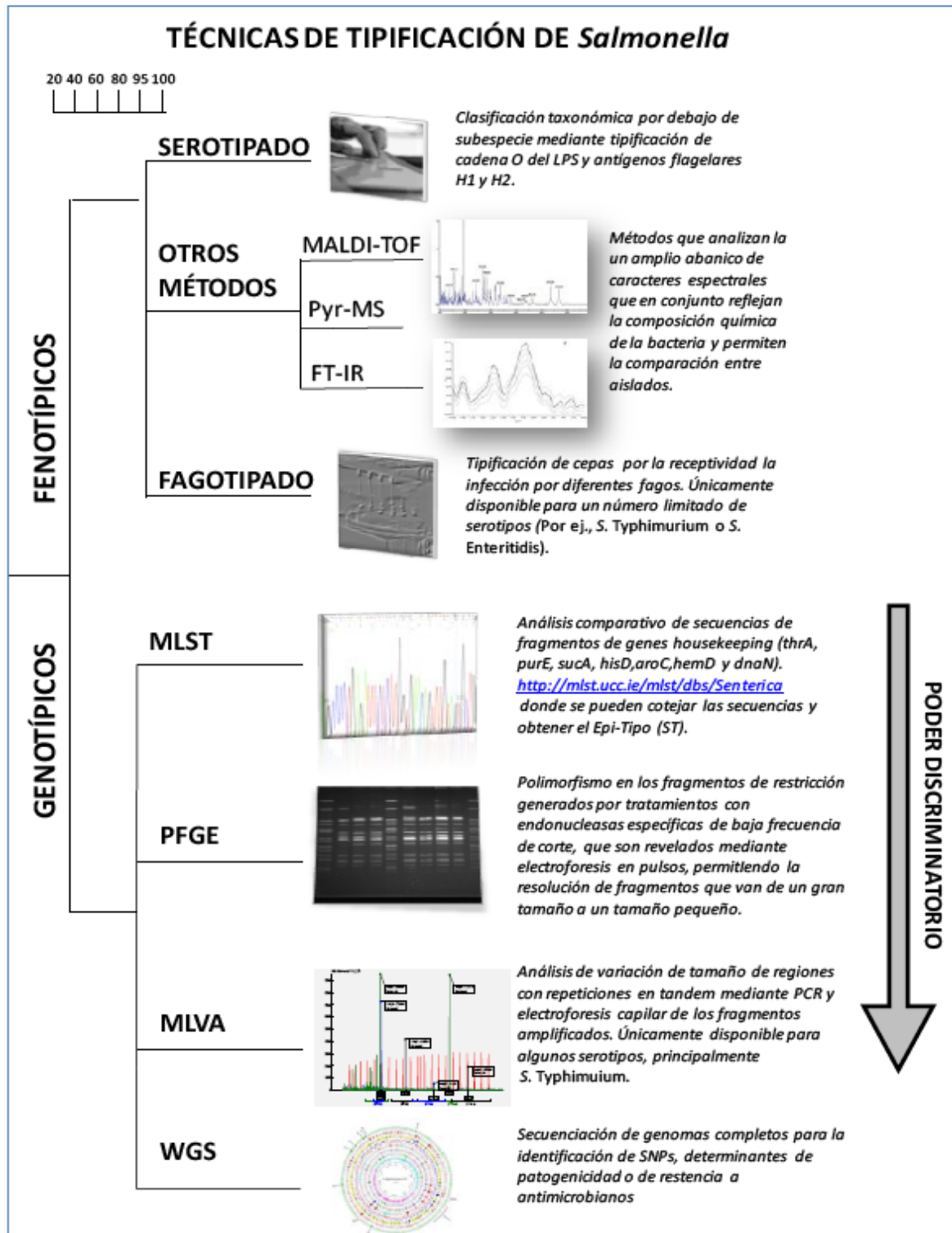


Ilustración 2: Principales técnicas de tipificación de *Salmonella* spp. Fuente: Argüello, 2013a.

1.2. ASPECTOS GENERALES DE *Campylobacter* spp.

1.2.1. Contexto histórico de *Campylobacter* spp.

Hay que remontarse al año 1886 para localizar la primera descripción de las bacterias del género *Campylobacter*. Fue **Theodor Escherich** el que observó unos microorganismos con forma de espiral en muestras de heces y en el aparato digestivo de niños que murieron como consecuencia de un proceso de gastroenteritis (Butzler, 2004).

Sin embargo, no es hasta 1909 cuando **McFadyean y Stockman**, desde el campo de la veterinaria, aíslan una bacteria desconocida hasta el momento parecida a un vibrión (Imagen 2) en fetos de ovejas (McFadyean y Stockman, 1913). Como la morfología era parecida a un vibrión se propuso el nombre de *Vibrio fetus* (Smith y Taylor, 1919).

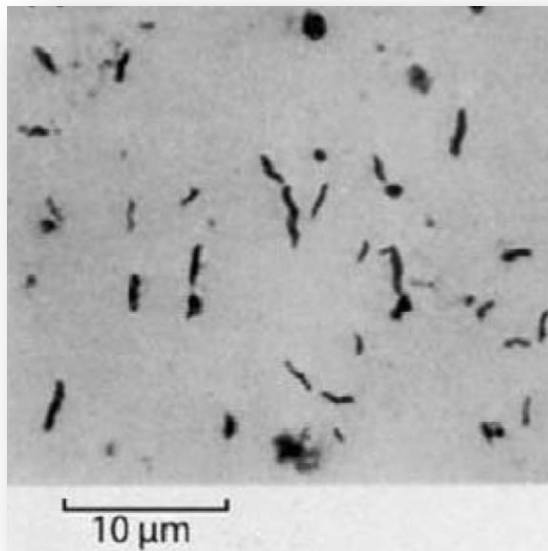


Imagen 2: Primer aislado de *Campylobacter* spp. Fuente: Aguilar, 2014.

Posteriormente continúan los hallazgos de esta bacteria en las heces de otros animales enfermos, como terneros y cerdos, hasta que en 1938 se documenta el primer brote de campilobacteriosis en el ser humano. Por primera vez se constata la presencia de *Vibrio jejuni* en 355 personas con gastroenteritis que habían consumido la misma leche (Levy, 1946; Butzler, 2004).

El género *Campylobacter* se establece en 1963 al determinarse que estas bacterias presentan características bioquímicas diferentes a los del género *Vibrio* en su microaerofilia, ausencia de metabolismo fermentativo y su menor composición en bases G+C (Sebald y Veron, 1963). De esta manera, *Vibrio jejuni* y *Vibrio coli* pasaron a ser respectivamente *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* (Véron y Chatelain, 1973).

El primer aislamiento de *Campylobacter* spp., realizado a partir de materia fecal, fue desarrollado en 1968 por Dekeyser *et al.*, (1972), pero no fue hasta 1977 cuando Skirrow desarrolló una sencilla técnica que permitía realizar cultivos de la bacteria. Este hecho supuso un avance a la hora de detectar de manera rutinaria esta bacteria y evaluar su importancia como patógeno para el ser humano (Skirrow, 1977).

Los trabajos de Penner y Hennessy (1980) y Lior *et al.*, (1982) en los años 80 permitieron la serotipificación de las cepas. Esta técnica sigue siendo la base de la caracterización de cepas de *Campylobacter* spp. (Butzler, 2004). A partir de este momento se reconoce a *Campylobacter* spp. como la causa más frecuente de gastroenteritis bacteriana en el ser humano y en todos los países (Butzler, 2004), siendo *C. jejuni* y *C. coli* las especies enteropatógenas más importantes en personas.

Campylobacter spp. puede encontrarse en una gran cantidad de animales silvestres y domésticos, así como también en agua, tierra y productos alimenticios (Keller *et al.*, 2007; OIE, 2008b; ELIKA, 2013). El reservorio más importante lo constituye el tracto intestinal de mamíferos y aves, su transmisión se realiza vía oral-fecal, a través del consumo de alimentos o agua contaminada, o bien por contacto directo con los animales hospedadores (OIE, 2008b, OMS, 2011; Agencia Española de Seguridad Alimentaria (AESAN), 2012; ELIKA, 2013).

1.2.2. Características Morfológicas y Bioquímicas del género *Campylobacter* spp.

Las bacterias del género *Campylobacter* son bacilos Gram negativos, no formadores de esporas, que presentan una morfología curvada o en forma de S característica y de pequeño tamaño (0,2 – 0,8 μm de grosor y 0,5 – 5 μm de longitud (Debruyne *et al.*, 2008). Poseen una alta capacidad de movimiento gracias a la presencia de un flagelo en uno o dos de los polos de la bacteria, presentando un movimiento tipo sacacorchos (Hendrixson *et al.*, 2001; Debruyne *et al.*, 2008; Yamamoto *et al.*, 2013). Se localizan especies no móviles en *C. gracilis* (Debruyne *et al.*, 2008).

La presencia de flagelos en *Campylobacter* spp. trasciende el aspecto de la motilidad, esto es reconocido como uno de los factores más importantes para determinar la virulencia de la bacteria, ya que es determinante para la colonización del intestino. Además, el papel del flagelo es imprescindible para la supervivencia de *Campylobacter* spp. en diferentes nichos ecológicos en el tracto digestivo, para el abordaje de los sitios de unión sobre las células epiteliales del intestino y su posterior invasión (Dasti *et al.*, 2010, Wassenaar y Blaser, 1999). Son bacterias microaerófilas, puesto que para su óptimo crecimiento necesitan una concentración de un 5- 10% de oxígeno, y un 5-10% de dióxido de carbono (ELIKA, 2013; OIE 2008b). Su temperatura de crecimiento se sitúa entre los 3°C y los 37°C (Debruyne *et al.*, 2008). *C. jejuni* y *C. coli* son especies termófilas, por lo que pueden crecer entre 37 y 42 °C (Silva *et al.*, 2011), pero no pueden crecer a partir de 55 °C (Levin, 2007) y no sobreviven a tratamientos térmicos superiores a 60° C (ELIKA, 2013).

También pueden presentar forma esférica o cuerpos cocoides en condiciones medioambientales desfavorables. Estas formas degenerativas muestran un estado viable pero no cultivable (VPNC) (Rosenquist *et al.* 2007), no queda claro todavía el papel de estas formas en la infección en los animales y humanos (Van de Giessen *et al.*, 1996).

Por lo que respecta a la *a_w* su crecimiento óptimo se presenta con una *a_w* de 0,997, no pudiendo crecer en medios con una *a_w* menor de 0,987. En cuanto al pH óptimo se encuentra situado entre 6,5 y 7,5; siendo incapaz de crecer con un pH menor de 4,9 y mayor de 9,0 (Silva *et al.*, 2011; ELIKA, 2013).

En cuanto a las características bioquímicas, se presentan de forma resumida en la Tabla 3.

Tabla 3: Características bioquímicas de especies de *Campylobacter* spp. termotolerantes. Fuente: elaboración propia basada en INEI, 2001.

	<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
	<i>jejuni</i>	Doyle			
Hidrólisis de hipurato	+	+	-	-	-
Oxidasa	+	+	+	+	+
Producción de catalasa	+	+	+	+	-/d
Producción de nitratos	+	-	+	+	+
Producción de SH ₂	-	-	-/d	-	-
R. Ac. Nalidíxico	S	S	S	R	S
R. cefalotina	R	V	R	R	S
Indoxil acetato	+	+	+	-	+
TTC	S/d		S	S	
Glicina 1%	+	+	+	+	V

S: sensible; R: resistente; d: débil; V: variable; TTC: cloruro trifenil tretazolium

Campylobacter spp. es sensible a condiciones desfavorables del medio ambiente como son: el enfriamiento ya que este disminuye su viabilidad (Garenaux *et al.*, 2011), la desecación, cocción y pasteurización (OMS, 2011). También le afectan condiciones de salinidad y de acidez, así como a la irradiación (Park, 2002; ELIKA, 2013). La mayoría de desinfectantes como el alcohol, formol, compuestos yodados y amonios cuaternarios, son eficaces para eliminar *Campylobacter* spp. (Avrain *et al.*, 2003).

Campylobacter spp. es capaz de formar *biofilm* en medios acuáticos (Buswell y *et al.*, 1998) y en superficies de plástico poliestireno, vidrio y acero inoxidable (Gunther y Chen, 2009), lo que le permite incrementar su capacidad de supervivencia en condiciones medioambientales desfavorables, siendo este un punto fundamental a la hora de elaborar los planes de limpieza y desinfección (Joshua *et al.*, 2006).

No obstante, y como consecuencia de su necesidad de crecer en condiciones microaeróbicas y con rangos de temperatura más bien altos, condicionan de una forma restrictiva la capacidad de reproducción de este microorganismo fuera de su hospedador, así como en las distintas etapas de procesado y almacenamiento de los alimentos (Park, 2002; ELIKA, 2013).

1.2.3. Taxonomía.

Las especies del género *Campylobacter* spp., se ubican en reino *Bacteria*, filo *Protobacteria*, clase Épsilon de las *Proteobacterias*, en el orden *Campylobacterales*, que incluye la familia *Campylobacteraceae*. Esta última comprende los géneros *Campylobacter* spp. y *Arcobacter* spp. (Butzler, 2004). En 1991, una revisión de la taxonomía y nomenclatura del género *Campylobacter* fue propuesto de acuerdo con *Manual de Bergey* con 18 especies (OIE, 2008b).

El género *Campylobacter* contiene actualmente 18 especies, y 6 subespecies clasificadas por la comparación de las secuencias genéticas 16S rRNA (Debruyne *et al.*, 2008, Vandamme *et al.*, 2005; Vandamme *et al.*, 2010).

Las especies que se detectan con mayor frecuencia en el hombre son *C. jejuni* y *C. coli*, (OMS, 2011).

1.2.4. Detección, identificación y caracterización del género *Campylobacter* spp.

1.2.4.1. Detección y aislamiento.

En la mayoría de las ocasiones el coprocultivo es el método diagnóstico más utilizado en la detección de *Campylobacter* spp. (Abubakar *et al.*, 2007), para efectuar el aislamiento de *Campylobacter* spp. se toman muestras de heces, y se pueden utilizar esponjas estériles, hisopos, o envases estériles (Ellerbroek *et al.*, 2010; Kudirkiene *et al.*, 2011; Melero *et al.*, 2012).

Si se va a realizar en el mismo día la toma de muestras y el transporte hasta el laboratorio, bastaría con un recipiente convencional. Sin embargo, si las muestras van a ser llevadas al laboratorio en un día diferente al de la toma de muestras, es necesario disponer de sistemas de refrigeración en su transporte y almacenamiento para su conservación (Crushell *et al.*, 2004). En el diagnóstico en humanos además es recomendable una muestra de sangre, en caso de sospecha de bacteriemia (Bolton, 2001).

Para detectar la presencia de la bacteria también se pueden tomar muestras ambientales, agua o alimentos, y posteriormente utilizar medios selectivos (Baylis *et al.*, 2000, Ugarte-Ruiz *et al.*, 2012). En la detección y diagnóstico de *Campylobacter* spp. se pueden utilizar **tanto métodos de diagnóstico directos como indirectos.**

Diagnóstico por métodos directos

- **Identificación Directa.**

Por examen microscópico de heces frescas mediante tinción Gram o microscopio de contraste (Butzler, 2004).

- **Aislamiento bacteriológico.**

Presenta las siguientes fases:

- **Enriquecimiento:**

El enriquecimiento es una etapa que no siempre está presente en el proceso de caracterización de *Campylobacter* spp. Se recomienda su utilización cuando se sospecha que la muestra presenta un número bajo de bacterias, o muestras que contienen una elevada cantidad de células dañadas por alguna razón (Richardson *et al.*, 2009). Dentro de los métodos más empleados para el enriquecimiento estarían los **caldos selectivos Bolton, Preston, Park-Sanders y Exeter**. Estos caldos contienen, además, antibióticos capaces de inhibir el crecimiento de la microbiota saprofita del intestino (Endtz *et al.*, 1991) y mejorar así el aislamiento de *Campylobacter* spp. (Baylis *et al.*, 2000; Hu y Kuo, 2011).

El **caldo de Bolton** es el más recomendado para el enriquecimiento en la norma ISO 10272-1 (ISO, 2006a), además ha demostrado ser mejor que los **caldos de Preston y de Mueller Hinton**, para el crecimiento de la bacteria.

- **Aislamiento:** por medio de cultivos selectivos como:

- *Medios sólidos selectivos con sangre: agar Preston, agar Skirrow, agar Butzler y Compy-Cefex.*
- *Medios sólidos selectivos con base de carbón: el Carbón Cefoperazona Desoxicolato (mCCDA, en sus siglas inglesas) agar Karmali o Medio de Carbón Selectivo (CSM, en sus siglas inglesas), agar Cat (Cepoferazona, Anfotericina y Teicoplanina).*

En estos medios las bacterias son incubadas en atmosfera microaerófila 5-10% de oxígeno, a una temperatura que puede oscilar entre 37°C y 42°C siendo la temperatura óptima para *Campylobacter jejuni* y *coli* de 42°C y por un tiempo de entre 48 a 72 horas (Butzler, 2004). Los más utilizados son el agar Preston, el mCCDA, Skirrow, Karmali y el agar Butzler (Silva *et al.*, 2011). Desde la norma ISO 10272, se propone una metodología que estandariza el aislamiento y la cuantificación de *Campylobacter* spp. en los productos destinados al consumo humano, a la alimentación de los animales, y las muestras ambientales en el área de producción alimentaria y manipulación de alimentos; pero no incluye las muestras intestinales o de heces. La base de esta técnica de aislamiento se encuentra en el carbón cefoperazona modificado y recomienda el uso del **caldo Bolton** como medio de enriquecimiento previo (ISO, 2006a).

- **Diagnóstico por Técnicas moleculares.**

Actualmente se tiende a utilizar métodos más rápidos y fáciles de realizar como son las técnicas moleculares siendo la PCR la técnica más eficaz y utilizada por su rapidez (Silva *et al.*, 2011). En comparación con los métodos de cultivo tradicional, la técnica de PCR reduce significativamente el tiempo para la identificación de *Campylobacter* spp. y permite la identificación de diversas especies de *Campylobacter* spp. en un solo día, incluso especies poco comunes, o difíciles de cultivar (Butzler, 2004; Kulkarni *et al.*, 2002). Detecta secuencias de ADN tanto de bacterias vivas como muertas.

Sin embargo, presenta el inconveniente de ser un método caro y no proporciona el aislamiento del organismo para poder realizar su tipificación o las pruebas de sensibilidad antimicrobiana (Butzler, 2004). En el caso de querer identificar subespecies de *Campylobacter*, sería necesario utilizar una técnica de PCR múltiple ya que una PCR simple no sería adecuada para este propósito (Miller *et al.*, 2007).

Diagnostico por métodos indirectos:

El diagnostico por serología está indicado en casos de personas que presenten cultivos negativos y tengan síndrome de *Guillain-Barré* o artritis reactiva (Cawthraw *et al.*, 2002). El uso de este tipo de técnicas como el ELISA, favorecen el diagnóstico rápido de campilobacteriosis reduciendo el tiempo de detección en muestras de heces o alimentos (Abubakar *et al.*, 2007).

Sin embargo, los inconvenientes que presentan estas técnicas son la cantidad de cepas que no es capaz de identificar, las exigencias técnicas y el requerimiento de tiempo para su aplicación. Además, los reactivos antisuero no están disponibles fácilmente (Wassenaar y Newell, 2000).

1.2.4.2. Identificación y caracterización

Tras el aislamiento de *Campylobacter* spp. se puede recurrir a diversas técnicas de identificación (OIE, 2008b). La confirmación se puede realizar utilizando las siguientes técnicas:

- **Examen microscópico de la morfología de las colonias aisladas en agar sangre o mCCDD (identificación en medio sólido):** en los cultivos realizados en agar sangre las colonias típicas de *Campylobacter* spp. son de color rosa pálido, redondas, convexas, lisas y brillantes con bordes regulares. En los medios basados en el carbón vegetal, como mCCDD, las colonias típicas son grisáceas, planas y húmedas con tendencia a extenderse y anchas con brillo metálico.

- **Examen microscópico de morfología y motilidad:** mediante la suspensión de una colonia sospechosa en medio salino y con un microscopio de contraste se evalúa la presencia de bacilos finos en espiral o curvados en forma de sacacorchos, y en el caso de cultivos más antiguos formas de coco menos móviles.
- **Utilización de pruebas basadas en la técnica de aglutinación en látex:** que detecta los antígenos de *Campylobacter* spp. de las colonias aisladas o directamente de las heces (Wilma *et al.*, 1992).
- **Detección mediante Oxidasa:** que consiste en poner una colonia en contacto con el reactivo Oxidasa y si esta vira a color azul o violeta en menos de 10 segundos se considera oxidasa+.
- **Crecimiento microaerobio a 25°C:** inoculando el cultivo puro en placa de agar sangre no selectivo, y se incuba a 25°C en una atmósfera microaeróbica durante 48 horas.
- **Crecimiento aeróbico a 41,5°C:** inoculando el cultivo puro en placa de agar sangre no selectivo y se incuba a 41,5°C en una atmósfera aerobia durante 48 horas.

Fenotipado: existen distintas técnicas que permiten caracterizar a las distintas especies:

- **Pruebas bioquímicas:** oxidasa, catalasa o hidrólisis de hipurato (Butzler, 2004; ISO 2006a). Se trata de métodos bioquímicos para la identificación de *Campylobacter* spp. Hay que destacar que la hidrólisis de hipurato se utiliza para diferenciar *C. jejuni* de otras especies, ya que *C. jejuni* es la única especie hipurato positiva (Bolton, 2001). No obstante, es preciso señalar que la existencia de algunas cepas hipurato negativas hacen que esta diferenciación bioquímica sea limitada (Roop *et al.*, 1984; Nicholson y Patton, 1993). Las pruebas confirmativas de la presencia de *Campylobacter* spp. termófilo y su interpretación se proporcionan en el Cuadro 1. Los resultados de las pruebas se confirman utilizando controles positivos y negativos, Cuadro 2.

Pruebas confirmativas para <i>Campylobacter</i> termófilo.
- Morfología de pequeños bacilos curvados.
- Movilidad característica: elevada movilidad en forma de sacacorchos.
- Oxidasa: +
- Crecimiento aeróbico a 41,5°C: -
- Crecimiento microaeróbico a 25°C: -

Cuadro 1: Pruebas confirmativas para *Campylobacter* spp. termófilo. Fuente: elaboración propia con datos de OIE, 2008b.

Características fenotípicas básicas de especies termófilas seleccionadas de *Campylobacter*.

	Hidrólisis de hipurato	Hidrólisis de acetato de indoxil
<i>C. jejuni</i>	+	+
<i>C. coli</i>	-	+
<i>C. lari</i>	-	-

Cuadro 2: Características fenotípicas básicas de especies termófilas seleccionadas de *Campylobacter* spp. Fuente: elaboración propia con datos de OIE, 2008b.

- **Serotipado:** para la tipificación de cepas de *C. jejuni* y *C. coli* se ha empleado la serotipificación (basándose en la presencia de antígenos termoestables (heat-stable, HS) y termolábiles (heat-labile, HL) (Lior *et al.*, 1982), detectando más de 60 y 100 serotipos, respectivamente. El serotipado requiere de antisueros disponibles únicamente en laboratorios de referencia, siendo otras desventajas el alto número de cepas no tipificables, y su carestía.
- **Fagotipado:** es un método que consiste en el uso de paneles de virus bacteriófagos específicos, que diferencian entre las distintas bacterias hospedadoras (Frost *et al.*, 1999; Hopkins *et al.*, 2004), no obstante, este método presenta como el serotipado una serie de desventajas como el problema de reacciones cruzadas, y cepas no tipificables.

Genotipado: basado en el estudio de la información genética, los métodos más utilizados son:

- **PGFE:** la PGFE ha sido aplicada en numerosos estudios epidemiológicos de manera exitosa para identificar cepas de *Campylobacter* spp. Sin embargo, la PFGE presenta el inconveniente de ser un método de elevada exigencia técnica y requerimiento de tiempo, así como un de alto coste. Otro inconveniente que se detecta con esta técnica es que diferentes condiciones en la electroforesis pueden influir en los perfiles obtenidos, e incluso presentar dificultades para tipificar la especie de *Campylobacter* spp. (Wassenaar y Newell, 2000).
- **PCR-RFLP:** se trata de una técnica apropiada cuando se pretende diferenciar distintas especies de *Campylobacter*. Se basa en el análisis de la secuencia del rRNA 16S mediante PCR y enzimas de restricción y la posterior comparación con las secuencias presentes en una base de datos (Gorkiewicz *et al.*, 2003; Marshall *et al.*, 1999). La utilización de esta técnica se suele restringir al diseño de cebadores y sondas específicas de especie grupo o género necesarios en PCR y ensayos de hibridación (Lübeck *et al.*, 2003). De manera concreta, se ha desarrollado un protocolo bajo esta base que permite detectar *C. jejuni* de manera directa en los alimentos mediante una sonda de ADN de 1475 pb marcada con cromógeno (Ng *et al.*, 1997).

- **MLST:** para comparar las cepas de *Campylobacter* spp. aisladas a partir de animales (ganado bovino, ovejas, aves domésticas, cerdos, perros y gatos), del medio ambiente y de personas con campilobacteriosis se utiliza la MLST (Manning *et al.*, 2003).

2. ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS DE
Salmonella spp. y *Campylobacter* spp.

2. ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS DE *Salmonella* spp. Y *Campylobacter* spp.

2.1. *Salmonella* spp. Y *Campylobacter* spp. COMO CAUSANTES DE ZONOSIS, IMPACTO EN LA SALUD PÚBLICA.

Los microorganismos patógenos *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp., son los causantes de la mayoría de las notificaciones de enfermedades de origen alimentario en el ser humano (EFSA, 2015a). Ambos son zoonosis y presentan unas características epidemiológicas comunes: son enfermedades infecciosas intestinales, que afectan a toda la población, se pueden adquirir de forma directa o indirecta, con síntomas clínicos similares de gastroenteritis que, salvo complicaciones, remiten a los pocos días y que pueden aparecer de forma esporádica o en brotes epidémicos. Como es sabido las zoonosis son infecciones o enfermedades que pueden ser transmitidas directa o indirectamente entre animales y humanos (EFSA, 2011a).

En la Ilustración 3 se pueden observar las principales rutas de transmisión de enfermedades transmitidas por alimentos en el hombre.

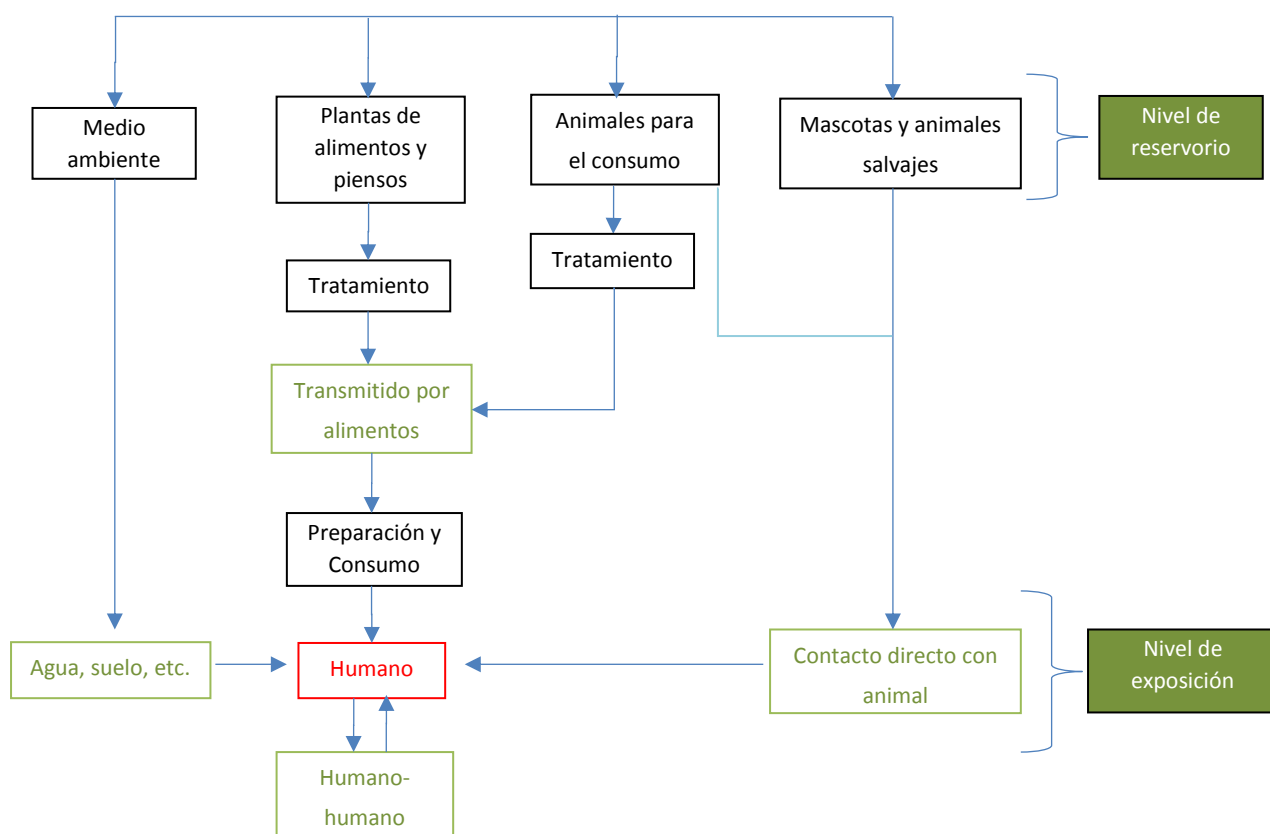


Ilustración 3: Principales rutas de transmisión de enfermedades transmitidas por alimentos en humanos. Fuente: elaboración propia basada en OMS, 2015b.

En la UE se notificaron 343.111 casos de enfermedades hospitalarias causadas por zoonosis durante el año 2014 (EFSA, 2015b), pero por las características de estas enfermedades (ya que muchas no se diagnostican ni notifican) el número real de afectados debe de ser muy superior. La campilobacteriosis sigue siendo en el año 2014 la enfermedad zoonótica más frecuente desde el año 2005 con 236.851 casos notificados, principalmente relacionados con la carne de pollo. Sin embargo, la salmonelosis que presentaba una tendencia decreciente en el periodo de siete años (2008-2014), en el año 2014 con 90.238 notificados y 88.715 casos confirmados tiene un incremento del 15,3% con respecto al año 2013. Esta tendencia decreciente observada en la UE hasta el año 2013 es debida principalmente a la puesta en marcha de programas de control de *Salmonella* spp. en aves de corral. Durante el año 2014 se ha detectado presencia de *Salmonella* spp. en carne de aves de corral y con menor frecuencia en carne de porcino y de bovino. El porcentaje mayor de muestras positivas se dieron en la carne de pavo con un 3,5%, carne de pollo con un 2,2%, carne de cerdo con un 0,5% y la carne bovina con un 0,1% (EFSA, 2015b). Como se puede comprobar en la Tabla 4 en España, los casos de *Salmonella* spp. se incrementaron en el 2014 respecto al 2013, y durante el año 2015, con los datos actualizados para el mismo mes se observa un ligero descenso con respecto al año anterior. Para los casos de *Campylobacter* spp. durante el año 2015 continúan con una tendencia ascendente respecto años anteriores (Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica RENAVE, 2015; RENAVE 2016).

Tabla 4: Microorganismos declarados al sistema de Información Microbiológica. Fuente: elaboración propia con datos de RENAVE (RENAVE, 2015; RENAVE, 2016).

Microorganismos declarados al sistema de información microbiológica. España. (Datos actualizados y cerrados a 05/04/2016)			
Microorganismos causantes de enfermedades de transmisión alimentaria y por agua	Total de casos acumulados		
	2015	2014	2013
<i>Campylobacter jejuni</i>	7.511	6.805	5.850
<i>Campylobacter coli</i>	568	438	278
<i>Campylobacter fetus</i>	11	11	11
<i>Campylobacter lari</i>	2	0	1
<i>Campylobacter</i> spp.	946	909	1.137
<i>Escherichia coli</i> O157	4	10	1
Otros <i>Escherichia coli</i> verotoxigénico	17	2	5
<i>Leptospira interrogans</i>	5	1	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	125	150	143
<i>Salmonella enteritidis</i>	886	1.281	1.200
<i>Salmonella</i> Typhimurium	1.476	1.656	1.327
<i>Salmonella</i> grupo B	532	398	525
<i>Salmonella</i> grupo D	324	131	174
Otros serogrupos/serotipos <i>Salmonella</i> no tifoidea	407	320	344
<i>Salmonella</i> spp	1.131	1.156	1.118

Hemos comentado anteriormente que tras la implantación de programas de control y sistemas de monitorización para la vigilancia de la *Salmonella* spp. en los últimos años, se ha podido constatar una disminución de la misma como agente etiológico implicado en toxiinfecciones alimentarias en la Unión Europea (UE). No obstante, no se puede obviar el hecho de que esta bacteria representa, después de la campilobacteriosis, la segunda causa de enfermedades zoonóticas en la UE, causando el 20% de los brotes de toxiinfección alimentaria (EFSA, 2015b). La zoonosis que causa la *Salmonella* spp. viene determinada por sus variedades no tifoideas, y suponen un problema de Salud Pública.

2.1.1. Infección por *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en el hombre.

***Salmonella* spp. en el hombre.**

La salmonelosis es una enfermedad de transmisión alimentaria muy común y extendida por todo el mundo. Todos los serotipos pueden causar la enfermedad en el ser humano, por lo general se trata de gastroenteritis leves, aunque dependiendo del hospedador como por ejemplo en pacientes inmunodeprimidos, ancianos y niños y si se trata de una cepa muy virulenta puede presentar complicaciones y poner en peligro su vida. Los dos serotipos más importantes de salmonelosis transmitida de los animales a los seres humanos en casi todo el mundo son *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium. La *Salmonella* spp. está ampliamente distribuida, las personas pueden contraer la enfermedad a través del consumo de alimentos contaminados de origen animal, siendo esta la causa mayoritaria de las infecciones, sin embargo, dadas las características de la bacteria también es posible su transmisión por consumo de otro tipo de alimentos no exclusivos de origen animal, como por ejemplo hortalizas contaminadas por estiércol y aguas contaminadas (OIE, 2008a). También hay que destacar la importancia de la transmisión de la enfermedad entre personas, de ahí la relevancia de los manipuladores de alimentos, así como el contacto de personas con animales infectados tanto animales de granja como las mascotas (incluidos los reptiles) que pueden ser portadores asintomáticos de la enfermedad (OMS, 2013).

Los síntomas de la enfermedad se manifiestan entre las 6 y 72 horas después de la ingesta de la *Salmonella* spp. La sintomatología de la *Salmonella* no tifoidea suele ser generalmente la de una gastroenteritis leve que puede presentar síntomas como: náuseas y vómitos, dolor abdominal, diarrea (en ocasiones con sangre), dolor de cabeza, fiebre, que suelen remitir espontáneamente en 2 a 7 días salvo complicaciones y en pacientes de riesgo como se ha descrito anteriormente. Eventualmente, se pueden presentar complicaciones que den lugar a deshidrataciones severas, así como bacteriemia siendo necesario en estos casos el uso de antibióticos y sueroterapia (OMS, 2013). Para realizar el diagnóstico de la enfermedad es necesaria la realización de coprocultivos y en ocasiones hemocultivos.

***Campylobacter* spp. en el hombre.**

La campilobacteriosis humana se ha establecido como la primera causa de zoonosis en la UE (EFSA, 2015b), y es la causa de gastroenteritis más importante a nivel mundial, tanto en los países en desarrollo como en los países desarrollados provocando más casos de diarreas que la *Salmonella* transmitida por alimentos. Como ocurre con la *Salmonella* spp. las infecciones por *Campylobacter* spp. suelen ser leves, pero pueden complicarse en niños, ancianos y personas inmunodeprimidas, siendo en los países en desarrollo frecuentes en menores de dos años y en ocasiones mortales (OMS, 2011). Los serotipos más detectados en enfermedades humanas son *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*.

La bacteria *Campylobacter* spp. se encuentra en el tracto intestinal de animales de sangre caliente, tanto en animales de abasto (destinados al consumo) como en mascotas (perros, gatos y pájaros) (Tenkate y Stafford, 2001; OIE, 2008b). La principal vía de transmisión, como en la salmonelosis, es por consumo de alimentos de origen animal, así como de aguas infectadas. También se han descrito como factores de riesgo actividades como el baño en aguas contaminadas (OMS, 2011; Schönberg-Norio *et al.*, 2004). Según un informe de la EFSA se detectan el mayor número de casos durante el verano y parte del otoño (EFSA, 2012).

Los síntomas de la enfermedad pueden aparecer entre uno y diez días postinfección. La manifestación de la enfermedad más común suele ser diarrea (en ocasiones con sangre), dolor abdominal, fiebre, dolor de cabeza y náuseas o vómitos que suelen remitir a los tres o seis días. Eventualmente se han observado complicaciones como: hepatitis, pancreatitis, bacteriemia, artritis y trastornos neurológicos como el síndrome *Guillain-Barré* (OMS, 2011; EFSA, 2012). Generalmente no requiere tratamiento, en caso de complicaciones se basa principalmente en la rehidratación y antibioterapia. El diagnóstico se realiza por examen microscópico directo o por medio de cultivos selectivos.

2.1.2. Resistencias antimicrobianas.

En los últimos años se han detectado numerosas cepas resistentes a antimicrobianos en ambas enfermedades, constituyendo actualmente un grave problema en aquellos casos en que es necesario el tratamiento con antibióticos.

Una de las causas que ha contribuido a la aparición de estas resistencias es debida al uso indiscriminado de antibióticos en los animales destinados a consumo humano. Las resistencias bacterianas constituyen un grave problema para la Salud Pública y pueden comprometer seriamente la eficacia de estos tratamientos (Torres y Zarazaga 2002; OMS 2015a). Esto adquiere especial importancia en aquellos casos en los que como hemos comentado anteriormente se presenten complicaciones (pacientes inmunodeprimidos, ancianos y niños) que puedan requerir de hospitalización y tratamiento específico con antimicrobianos y que como consecuencia de estas resistencias se complique su estado clínico y deriven en fallecimientos.

En las siguientes tablas comparativas (Tabla 5, 6 y 7) se pueden observar el porcentaje de resistencias a antimicrobianos de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. de origen porcino.

Tabla 5: Porcentaje de resistencias a distintos antimicrobianos en *Campylobacter coli* de origen porcino durante 2011. Fuente: elaboración propia con datos del Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas 2012, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA, 2012).

Antimicrob.	Ciprofloxacinas		Eritromicina		Gentamicina		Ácido Nalidixídico		Tetraciclinas	
	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res
PAIS										
España	81	90,1	81	63	81	44,4	81	90,1	81	100
Total (6 EM)	580	35,5	580	24,5	580	7,2	580	32,8	580	64,8

Tabla 6: Porcentaje de resistencias a distintos antimicrobianos en *Salmonella* Entérica de origen porcino durante el año 2011. Fuente: elaboración propia con datos del Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas 2012 (MAGRAMA, 2012).

Antimicrob.	Ampicilina		Cefotaxime		Cloranfenicol		Ciprofloxacina		Gentamicina		Ac. Nalidixídico		Sulfonamidas		Tetraciclinas	
	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res
PAIS																
España	82	48,8	82	2,4	82	17,1	82	17,1	82	3,7	81	13,4	81	59,3	82	76,8
EU (8 EM)	1.268	54,2	1.286	1	1.286	15,6	1.286	4	1.286	3,7	1.286	3,4	1.286	60,5	1.286	60,5

Tabla 7: Porcentaje de resistencias a distintos antimicrobianos en *Salmonella* Typhimurium de origen porcino durante el año 2011. Fuente: elaboración propia con datos del Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas 2012 (MAGRAMA, 2102).

Antimicrob.	Ampicilina		Cefotaxime		Cloranfenicol		Ciprofloxacina		Gentamicina		Ac. Nalidixídico		Sulfonamidas		Tetraciclinas	
	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res
PAIS																
España	19	88,5	19	5,3	19	26,3	19	26,3	19	5,3	19	21,1	19	89,5	19	89,5
UE (4 EM)	404	71,5	404	0,2	404	30	404	4,5	404	5,9	404	3,7	404	74,5	404	69,1

Respecto a la susceptibilidad de los aislados de *Salmonella* Typhimurium monofásica en ganado porcino, durante el año 2013 en España, los mayores niveles de resistencia se detectaron frente a ampicilina (90,5%), sulfonamidas (90,5%) y tetraciclinas (100%). Se detectaron niveles bajos frente Ciprofloxacino y Gentamicina y no se detectó resistencia frente a Cefotaxima, Cloranfenicol ni Acido Nalidíxico.

Estos resultados son bastante similares a los notificados en el conjunto de la UE con la excepción del Cloranfenicol frente al cual en la UE sí que se encontró resistencia (12,2%) (Tabla 8).

Tabla 8: Porcentaje de resistencias a distintos antimicrobianos en aislados de *Salmonella* Typhimurium monofásica de cerdos durante 2013. Fuente: elaboración propia basada en el Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas 2013. (MAGRAMA, 2013).

	Ampicilina		Cefotaxima		Cloranfenicol		Ciprofloxacino		Gentamicina		Ác. nalidíxico		Sulfonamidas		Tetraciclinas	
	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res
España	21	90,5	21	0	21	0	21	4,8	21	9,5	21	0	21	90,5	21	100
UE (6 EM)	229	86,5	229	0	229	12	229	6,1	229	8,3	229	3,1	229	90,8	229	90,8

En los últimos años se ha observado una tendencia hacia el aumento en la proporción de cepas resistentes de *Salmonella* spp. de origen porcino frente a la Ampicilina, tanto en España como en la UE. En cuanto al resto de antimicrobianos a pesar de algunas oscilaciones no se ve una tendencia clara en el tiempo (MAGRAMA, 2013).

En cuanto a *Campylobacter* spp., la Tabla 9 muestra los porcentajes de cepas de *C. coli* resistentes a los distintos antimicrobianos notificadas por España junto con la media de los países europeos que han aportado datos durante el año 2013. España registró los niveles más altos para todos los antimicrobianos, más del 90% de las cepas fueron resistentes a Tetraciclina, a Ciprofloxacina y a Acido Nalidixico, y como en el caso de las aves, no se han observado variaciones de interés en los últimos años (MAGRAMA, 2013).

Tabla 9: Porcentaje de resistencias a distintos antimicrobianos en *Campylobacter* spp. de origen porcino durante el 2013. Fuente: elaboración propia basada en el Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas 2013 (MAGRAMA, 2013).

	Ciprofloxacino		Eritromicina		Gentamicina		Ác. nalidíxico		Tetraciclinas	
	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res	n	% Res
<i>Campylobacter coli</i> de porcino										
España	108	93,5	108	58,3	108	11,1	108	93,5	108	98,1
UE (6 EM)	748	31,1	748	20,7	748	1,9	688	30,7	748	72,3

2.1.3. Prevalencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en el hombre.

Prevalencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en el hombre a nivel mundial.

Actualmente, en aquellos países de los se dispone de datos epidemiológicos fiables, se puede observar que la salmonelosis y la campilobacteriosis son las zoonosis con mayor prevalencia. En la mayoría de las ocasiones la aparición de estas enfermedades se ha podido relacionar directa o indirectamente con el consumo de alimentos de origen animal.

La OMS ha elaborado un informe sobre la situación mundial de las enfermedades transmitidas por alimentos, denominado: *Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de enfermedades transmitidas por alimentos* (OMS, 2015b). Este estudio ha sido realizado por el grupo mundial de referencia epidemiológica sobre enfermedades de transmisión alimentaria entre los años 2007 y 2015. Durante estos años se han realizado las primeras estimaciones sobre la presencia a nivel mundial de las enfermedades transmitidas por alimentos, así como su morbilidad y mortalidad. Aunque este tipo de enfermedades se pueden dar en individuos de cualquier edad, un 40% se dan en niños menores de 5 años y especialmente en países en vías de desarrollo, siendo estos los principales afectados a nivel mundial.

Los datos epidemiológicos de las enfermedades transmitidas por alimentos son escasos, especialmente si se trata de países en vías de desarrollo, ya que en la mayoría de las ocasiones no se diagnostican ni se investigan las causas de las enfermedades de la población.

Durante el año 2010 se identificaron aproximadamente 600 millones de casos de enfermedades transmitidas por alimentos, que causaron 420.000 muertes. La mayoría (unas 230.000) se debieron a los agentes infecciosos causantes de diarreas, y en particular provocadas por norovirus y *Campylobacter* spp. (OMS, 2015b). El patógeno responsable de 59.000 de estas muertes fue la *Salmonella enterica* y de estas, 32.000 se produjeron en África. Los estudios de este informe demuestran la gran diferencia existente respecto a la incidencia de las enfermedades transmitidas por alimentos entre las distintas regiones del mundo. En África se dan entre 1.300-1.200 casos por cada 100.000 habitantes; en Asia 690 casos por cada 100.000 habitantes; en el Mediterráneo Oriental 570 casos por cada 100.000 habitantes; y en otras subregiones como América Central y del Sur entre 360-140 casos por cada 100.000 habitantes.

Por el contrario, la menor presencia de la enfermedad se da en los llamados países desarrollados: Europa y la región del Pacífico Occidental (Australia, Nueva Zelanda y Japón) se dan entre 40-50 casos por cada 100.000 habitantes y en Norteamérica 35 casos por cada 100.000 habitantes. También se puede observar que existen muchas diferencias sobre la mortalidad: la mayor tasa de mortalidad se da en África, seguida del sudeste asiático y el Mediterráneo Oriental (OMS, 2015b).

Prevalencia de *Salmonella* spp. en el hombre en la UE y en España.

Como se ha comentado anteriormente, la zoonosis que causa la *Salmonella* spp. viene determinada por sus variedades no tifoideas, y suponen un problema de Salud Pública.

La mejora de los sistemas de monitorización y control para la *Salmonella* spp. desarrollados en las últimas décadas, han favorecido la identificación de agentes etiológicos implicados en toxiinfecciones, así como la elaboración de informes y datos estadísticos fiables que pueden facilitar su control. No obstante, no se puede obviar el hecho de que esta bacteria representa, después de la campilobacteriosis, la segunda causa de casos de zoonosis en la UE (Gráfico 1) (EFSA, 2015b).

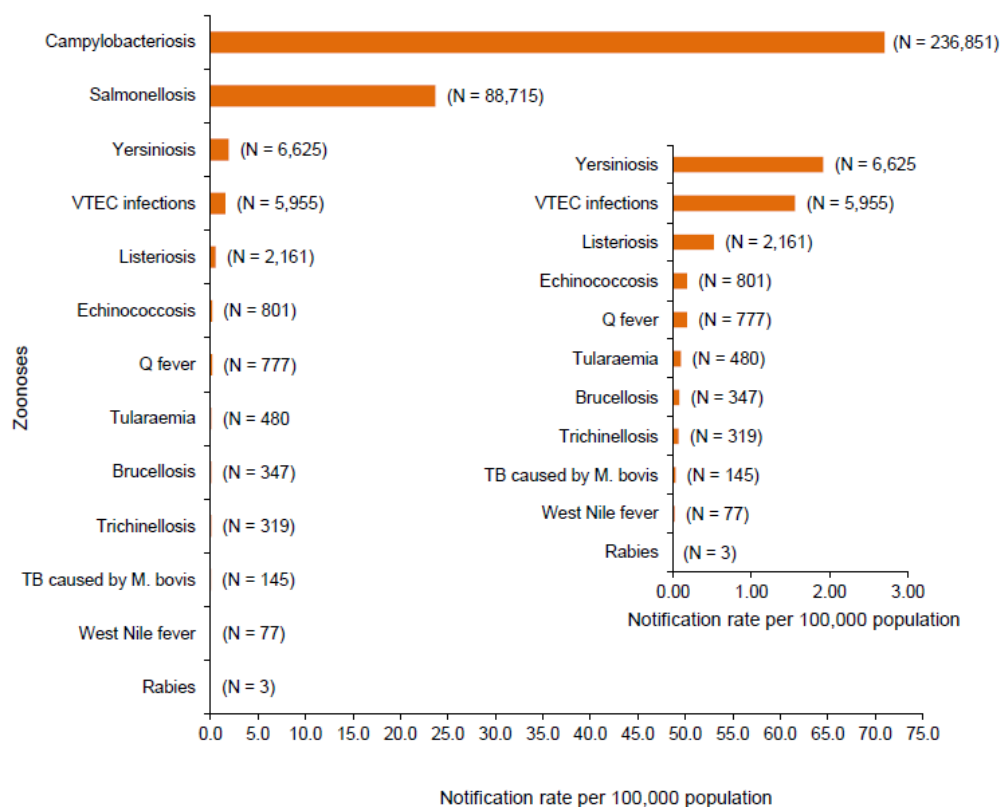


Gráfico 1: Notificaciones informadas de zoonosis en humanos para la UE en 2014. Fuente: EFSA, 2015b.

Según el informe de la UE de *Fuentes y Tendencias de Zoonosis, Agentes Zoonóticos y brotes de Toxiinfecciones 2014*, en 2014 se confirmaron un total de 88.715 casos de *Salmonella* spp. en 28 Estados Miembros (EM) de la Unión Europea (UE), suponiendo una tasa de 23,4 casos por cada 100.000 personas. En este informe la tasa para España fue del 47,6% (EFSA 2015b).

Otro factor que hay que considerar en la monitorización y control de esta bacteria es la estacionalidad que presenta. Durante los meses de verano es cuando se localizan la mayor parte de los casos notificados para el periodo 2008-2014 en la UE (EFSA, 2015b).

Respecto a la letalidad de esta bacteria, en el año 2014 se informó de 65 casos de fallecimientos en 11 EM, de los 15 que facilitaron datos. Esto supone una tasa de casos letales del 0,15 % para los casos confirmados de los que se dispone información. Sin embargo, si se comparan estos datos con el año 2013 se pudo observar que, si bien los casos confirmados son menos, la tasa de letalidad es muy similar con un 0,14% (EFSA 2015a; EFSA, 2015b). En total 14 estados miembros proporcionaron información sobre todos o algunos casos de salmonelosis que requirieron hospitalización. Letonia comunicó casos por primera vez en 2014 incrementando la proporción de casos que necesitaron hospitalización del 26,4% al 32% (EFSA, 2015b). La proporción de hospitalización más elevada fue informada por Chipre, Rumania, Grecia y Portugal. Tres de estos países también notificaron las tasas más bajas de *Salmonella* spp., lo que indica que los sistemas de vigilancia en estos países identifican principalmente los casos más severos.

En cuanto a las serovariedades de casos de infección humana, como en años anteriores, las dos serovariedades más confirmadas en 2014 fueron *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*, representando un 44,4% y 17,4%, respectivamente para todas las serovariedades confirmadas en casos humanos. En 2014 la proporción de *S. Enteritidis* se ha visto incrementada en un 13% con respecto al año 2013, como consecuencia del notable incremento de los casos informados por la República Checa, sin embargo, en años anteriores la tendencia era claramente decreciente, con 4760 casos menos en 2013 que en 2012 y con una reducción de casos confirmados del 19,3% comparado con 2011. En el periodo de 2012-2014 se ha observado una tendencia decreciente para los casos de *S. Typhimurium* (EFSA 2015a; EFSA, 2015b).

Durante el año 2014, en **España**, cuarenta y tres laboratorios de microbiología clínica notificaron al Sistema de Información Microbiológica (SIM) un total de 4.929 casos de infección por *Salmonella* spp, estos aumentaron levemente respecto al año 2013. Para evaluar la tendencia de la bacteria se han utilizado los datos de estos laboratorios que declararon de forma constante en los últimos seis años los resultados. En 2013 el número de casos declarados por esos laboratorios aumentó con respecto al 2012 (3.153 casos), (RENAVE, 2013; RENAVE 2014).

Si se analiza el serotipo estudiado se observa que la tendencia fue desigual (Gráfico, 2), aunque parece que se produce un incremento moderado del número de casos de *S. Typhimurium*. En el resto de serovariedades no se aprecia tendencia estable en los últimos años. El microorganismo que se aisló con más frecuencia en 2013, fue *S. Typhimurium* con 1.331 casos (28,3%), seguido de *S. Enteritidis* con 1.200 casos (25,5%); mientras que en el año 2014 se notificaron 1.640 casos (44,5%) de *S. Typhimurium* y 1.220 casos (33,1%) *S. Enteritidis*. Al contrario que lo que ocurre en la UE donde el serotipo *Enteritidis* sigue siendo el más frecuente, en España, es el serotipo *Typhimurium* el más notificado (RENAVE 2013; RENAVE, 2014).

También se puede comprobar que *S. Enteritidis* presenta una clara estacionalidad, incrementando el número de casos en los meses cálidos entre las semanas 28 y 48. En el resto de serotipos la estacionalidad no está tan clara (RENAVE, 2014).

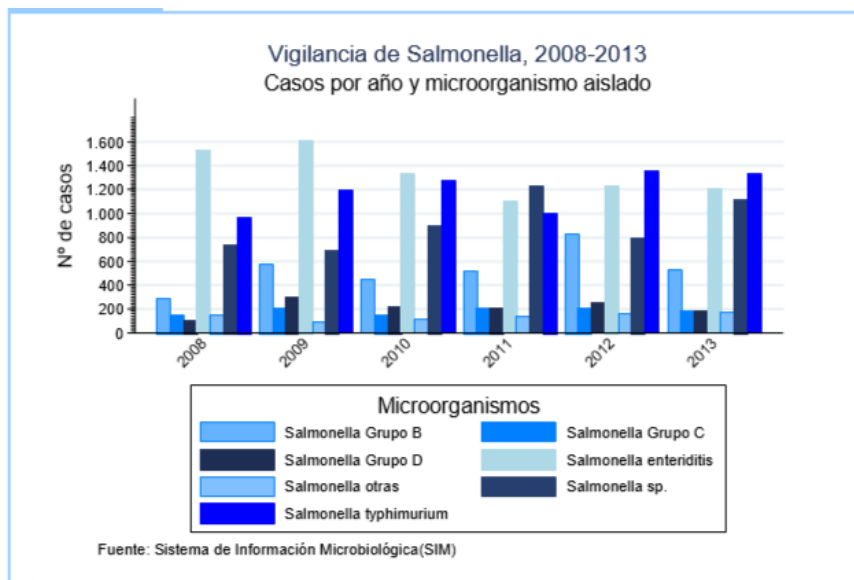


Gráfico 2: Tendencia de *Salmonella* spp. para el periodo 2008-2013 en función del serotipo estudiado. Fuente: RENAVE, 2013.

Respecto al perfil de las personas a las que afectó *Salmonella* spp., durante el año 2013 se dispone de información sobre sexo en 4.698 casos (99,8%). El 51,8% de los casos fueron hombres y el resto mujeres. Para el caso de la edad, se dispone de información en 4.677 casos (99,3%), y el 37,8% eran menores de 5 años y el 13,3% mayores de 65. Por lo que respecta al 2014, se dispone de información sobre sexo en 7.228 casos (99,9%), el 51,2% de los casos fueron hombres, en cuanto a la edad se dispone de información en 7.281 casos (99,8%) de estos el 37,4% eran menores de 5 años, el 17,5% niños de 5-9 años y el 14,6% mayores de 65. (RENAVE, 2013; RENAVE 2014).

Como hemos mencionado anteriormente, durante el año 2014 los casos para *Salmonella* spp. se incrementaron respecto al año anterior, no obstante, con los datos actualizados para el mismo mes del año 2015, se observa un ligero descenso de los casos notificados (RENAVE, 2015; RENAVE, 2016).

Prevalencia de *Campylobacter* spp. en el hombre en la UE y en España.

Según los últimos datos disponibles por la EFSA para 2014 (EFSA, 2015b), *Campylobacter* spp. continúa siendo la bacteria gastrointestinal en humanos con un mayor número de casos confirmados en la UE desde el año 2005. Durante el año 2014, 26 estados miembros aportaron datos sobre *Campylobacter* spp. En España también es la primera causa de gastroenteritis notificada al SIM durante los años 2013, 2014 y 2015 (RENAVE, 2015; RENAVE, 2016).

Las especies de *Campylobacter* spp. enteropatógenas más importantes en humanos son *C. jejuni* y *C. coli* seguidas de *C. lari* y *C. upsaliensis* (OMS, 2011; EFSA, 2012).

El número de casos confirmados para humanos en 2014 en la UE fue de 236.851 con un aumento de 22.067 con respecto a 2013 con 214.779 casos. Según el informe de la UE de *Fuentes y Tendencias de Zoonosis, Agentes Zoonóticos y brotes de Toxiinfecciones 2014*, durante el año 2014 la tasa de notificación para la UE fue de 71,0 casos por cada 100.000 habitantes, lo que representa un incremento del 9,6% respecto al año 2013 que comunicó una tasa del 64,8% por cada 100.00 habitantes. En este informe la tasa de España fue del 82,3% (EFSA, 2015b).

Si se analiza la tendencia de las tasas relativas a *Campylobacter* spp. informadas por meses para la UE entre 2008-2014, hay que resaltar la estacionalidad de esta bacteria ya que muestra una incidencia marcadamente más elevada durante los meses de verano y otoño. En la mayoría de los EM de la UE, durante el año 2014 la campilobacteriosis se asocia principalmente de una infección adquirida en el ámbito doméstico (≥ 90 % de casos), como fue el caso de Hungría, Letonia, Malta, Polonia, Eslovaquia, la republica Checa, Estonia y Alemania. Los casos de campilobacteriosis, asociadas a contaminación en viajes, fueron comunicados por los países nórdicos como Suecia y Finlandia (≥ 50 % de los casos).

Respecto a los casos de infección que requirieron hospitalización, fueron 16 EM los que notificaron casos para 2014, lo que supone el aumento de tres estados respecto a 2013. A pesar de esto, la información sobre la hospitalización solo estuvo disponible para el 25,4% de los casos confirmados en 2014, ya que la mayoría de EM tiene sistemas de vigilancia para campilobacteriosis basados en la notificación de los laboratorios, y no en los ingresos hospitalarios. Las tasas más elevadas de hospitalización fueron notificadas por Chipre, Lituania, Polonia, Rumanía y Letonia. De estos países, tres de ellos presentaban las menores tasas de campilobacteriosis, lo que representa, como en el caso de la *salmonellosis* que los sistemas de vigilancia en estos países identifican principalmente los casos más severos. Si se observan los casos de campilobacteriosis que han provocado muertes, se puede comprobar un descenso de las mismas durante el año 2014 con 25 fallecimientos, comparados con los 56 que se produjeron durante el año 2013, lo que deja al año 2014 con una tasa de mortalidad del 0,01 %, lo que supone la tasa más baja de los últimos cinco años (reducción del 0,03% para el periodo 2009-2013) (EFSA, 2015b).

Un 52,69% de los casos confirmados en la UE más Islandia y Noruega, aportaron datos sobre los serotipos, lo que supone un incremento del 9,4% respecto al año 2013 con un 48,1%.

De estos, 52,6% casos informados un 81,8% se corresponde con *C. jejuni*, el 7,13% se corresponden con *C. coli*, el 0,13 % con *C. lari*, el 0,09% con *C. fetus* y el 0,07 % con *C. upsaliensis*. Otras especies de *Campylobacter* spp. representaron el 10,6%, pero fueron registradas a nivel nacional como «*C. jejuni* o *C. coli*» sin diferenciación (EFSA, 2015b).

En **España** durante el año 2014 se declararon 11.415 casos de campilobacteriosis, el 75,4% de los casos (8.602) correspondieron a *C. jejuni*, el 4,3% (486) correspondieron a *C. coli*, 4 casos fueron de *C. fetus*, 1 de *C. lariidis* y un 20,3% no mencionaban la especie (*Campylobacter* spp.). En comparación en el año 2013, 54 laboratorios de microbiología clínica, informaron al SIM de 7.282 infecciones por *Campylobacter* spp., el 80,4% de los casos aislados (5.855) correspondieron a *C. jejuni*, el 3,8% (278) correspondieron a *C. coli*, 12 infecciones se debieron a otras especies. (*C. fetus* y *C. lari*) y un 15,6% (1137) no mencionaban la especie (*Campylobacter* spp.) (RENAVE, 2013; RENAVE, 2014).

En los últimos 6 años, 31 laboratorios notificaron de manera continuada la presencia de *Campylobacter* spp., y se puede observar un aumento importante de casos en 2013 con respecto a 2012. Como se ha señalado anteriormente, la estacionalidad en *Campylobacter* spp. hace que se detecten más casos durante el mes de junio de 2013 (semanas 22-24). Durante el año 2013, se notificaron 15 brotes que afectaron a 582 personas. Doce de estos brotes fueron de transmisión alimentaria. De estas infecciones el 57,4% de los casos fueron hombres. El 41,6% de los casos tuvieron entre 1 y 4 años, el 13,3% entre 5 y 9 años y el 11,4% fueron menores de 1 año de edad (RENAVE, 2013). Por lo que respecta al año 2014, se notificaron 13 brotes que afectaron a 93 personas, seis de estos brotes fueron de transmisión de persona a persona y los otros 7 de transmisión alimentaria. De los casos de infección notificados el 58,1% fueron hombres, el 38,4% fueron niños de entre 1 y 4 años, el 16,2% de entre 5 y 9 años y el 10,5% fueron menores de 1 año de edad (RENAVE, 2014). Los casos para *Campylobacter* spp. se incrementaron respecto al año anterior, y con los datos actualizados para el mismo mes del año 2015, se observa una clara tendencia ascendente (RENAVE, 2015; RENAVE, 2016).

2.1.4. Alimentos implicados en brotes. Evaluación de la exposición.

Las enfermedades zoonóticas transmitidas por alimentos son aquellas cuyo origen está en el consumo de comida o de agua contaminada por microorganismos patógenos como son las bacterias y sus toxinas, virus y parásitos. La mayoría de estos patógenos se encuentran en el tracto intestinal de los animales de abasto y el riesgo de que pasen a la cadena alimentaria comienza en las granjas de producción y continúa hasta la mesa del consumidor.

Los principales agentes causantes de las enfermedades transmitidas por los alimentos son:

- **Bacterias:** *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Escherichia coli* y *Yersinia* spp.
- **Toxinas Bacterianas:** toxinas de *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* y *Bacillus cereus*.
- **Virus:** *Calicivirus*, *Rotavirus*, Virus de la Hepatitis A y E.
- **Parásitos:** *Trichinella* spp., *Toxoplasma* spp., *Giardia* spp. y *Cristosporidium* spp.

Una mención aparte es para el prión causante de la Encefalopatía Espongiforme Bovina (BSE, en sus siglas inglesas) en el ganado bovino y que también puede transmitirse al hombre por consumo de carne causándole una variante de la enfermedad *Creutzfeldt-Jakob* (EFSA, 2011a).

Los alimentos que llegan al consumidor pueden contaminarse en cualquiera de las fases de la cadena alimentaria. El agente patógeno puede entrar en la cadena alimentaria ya en la granja y contribuir en las manipulaciones posteriores a su llegada al consumidor final, como ocurre a veces con la contaminación fecal en la fase de eviscerado del matadero. Los animales y sus productos pueden contaminarse de distintas maneras en las granjas, como por ejemplo por consumo de piensos contaminados, por contacto directo entre los animales, por una contaminación ambiental o bien por falta de higiene en las explotaciones. Los productos de la granja como la leche, huevos y productos vegetales pueden contaminarse también por prácticas incorrectas de higiene y manipulación, destacando la contaminación cruzada por deficiente manipulación o por la falta de higiene en los procesos. También los parásitos pueden infestar a los animales y a través de ellos pasar a los alimentos (EFSA, 2011a).

En el resto de la cadena alimentaria la contaminación suele ocurrir por prácticas incorrectas de manipulación, principalmente por contaminaciones cruzadas, deficiencia de higiene de los procesos, superficies y útiles contaminados y por manipuladores portadores (Instituto de Salud Carlos III, 2008). La definición de un brote por toxiinfección alimentaria viene determinada por la presencia de dos o más casos de una enfermedad que presentan un cuadro clínico similar, generalmente de tipo gastrointestinal, y que se asocia con una fuente o vehículo común de transmisión alimentaria.

La recopilación de datos sobre los brotes de origen alimentario a nivel de los estados miembros de la UE es una de las labores más importantes de la EFSA. Con todos estos datos sobre Seguridad Alimentaria la EFSA realiza una evaluación de riesgos e informan a los gestores de los riesgos y a los estados miembros sobre los criterios de vigilancia.

Durante el año 2014 se notificaron 5.251 brotes de origen alimentario en la UE (datos de 26 EM) lo que supone un ligero incremento respecto al año 2013 donde, se notificaron 5.196 brotes (datos de 24 estados miembros). Estos brotes dieron lugar a 45.665 afectados, con 6.438 hospitalizaciones y 27 muertes. España, Francia y Polonia son los países que más brotes alimentarios notificaron con el 56,8% del total de los brotes notificados en la UE. Según el informe de la EFSA en el año 2013 estos brotes afectaron a 43.183 personas, de las cuales 5.946 requirieron hospitalización y provocaron 11 muertes (EFSA, 2015a; EFSA, 2015b).

En el año 2014 se pudo identificar el agente causante de los brotes en un 70,9% de los casos. El agente que se detectó con mayor frecuencia fueron los virus con un 20,4%, *Salmonella* spp. con un 20%, toxinas bacterianas con un 16,1%, *Campylobacter* spp. con un 8,5% y otros con un 2,7% (EFSA, 2015b). Si lo comparamos con el año 2013, *Salmonella* spp. fue el agente causal del mayor número de los brotes con un 22,5%, seguido por virus 18,1%, toxinas bacterianas 16,1%, y *Campylobacter* spp. 8% y un 28,9% de origen desconocido.

Como en años anteriores, los principales alimentos responsables de los brotes en el año 2014, fueron los huevos y ovoproductos con un 18%, alimentos mixtos, con un 12,8%, crustáceos moluscos y mariscos con un 8,1% y vegetales y zumos con un 7,1%, destacando que estos últimos han sufrido un incremento con lo que respecta al año 2013 donde fueron los causantes del 4,4% de los brotes (EFSA, 2015a; EFSA, 2015b).

Respecto a los lugares donde se producen la mayor parte de los brotes alimentarios la mayoría de los casos notificados de brotes durante el año 2014, en la UE procedían del ámbito doméstico (37,3% de los brotes asociados al mismo), seguido de la restauración colectiva (26%) y escuelas y guarderías con (5,4%). Las causas de los brotes se deben en primer lugar al tratamiento inadecuado por calor de los alimentos y en segundo lugar a las contaminaciones cruzadas (EFSA, 2015b).

Alimentos implicados en brotes de salmonelosis.

La *Salmonella* spp. es una bacteria que se encuentra presente en toda la cadena alimentaria y su gran resistencia hace que pueda sobrevivir fuera del hospedador en entornos hostiles como ambientes secos o en el agua, por lo que la podemos encontrar desde la producción primaria hasta los establecimientos elaboradores de comidas, así como en las casas de los consumidores. La principal fuente de contagio para el ser humano suele ser los alimentos contaminados de origen animal principalmente: huevos, carne de ave, carne de otras especies (porcino, vacuno, ovino) y leche. Aunque por las características de la bacteria también hay que tener en cuenta su posible presencia en frutas y hortalizas, así como aguas de consumo contaminadas (OMS, 2013).

El origen alimenticio más importante de los brotes de *Salmonella* spp. en 2014 (Gráfico 3) fueron los huevos y sus productos derivados con un 44%, seguidos de los productos de panadería con un 12,9% y en tercer lugar la carne de cerdo y derivados con un 9,3% (EFSA, 2015b).

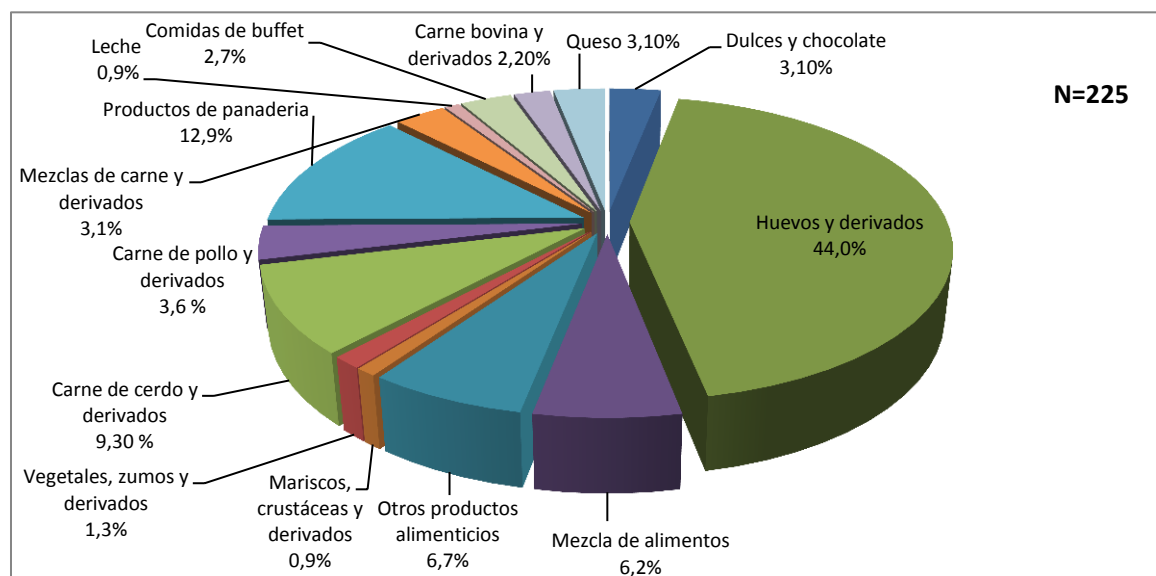


Gráfico 3: Distribución de los brotes alimentarios con elevadas evidencias causados por *Salmonella* spp. en la UE para 2014. Fuente: elaboración propia basada en EFSA, 2015.b

Respecto a los serovares de los brotes confirmados de *Salmonella* spp. en el año 2014 en la UE, 142 fueron causados por *Salmonella* Enteritidis lo que supone una disminución del 31,4% respecto al año 2013, seguido de un 12% causados por *Salmonella* Typhimurium. Los brotes causados por *Salmonella* Enteritidis (Gráfico 4) se han asociado al consumo de huevos y ovoproductos con un 46,1% de los casos, mientras que los causados por *Salmonella* Typhimurium (Gráfico 5) son atribuidos al consumo de carne de cerdo y sus productos con un 48,1% (EFSA, 2015b).

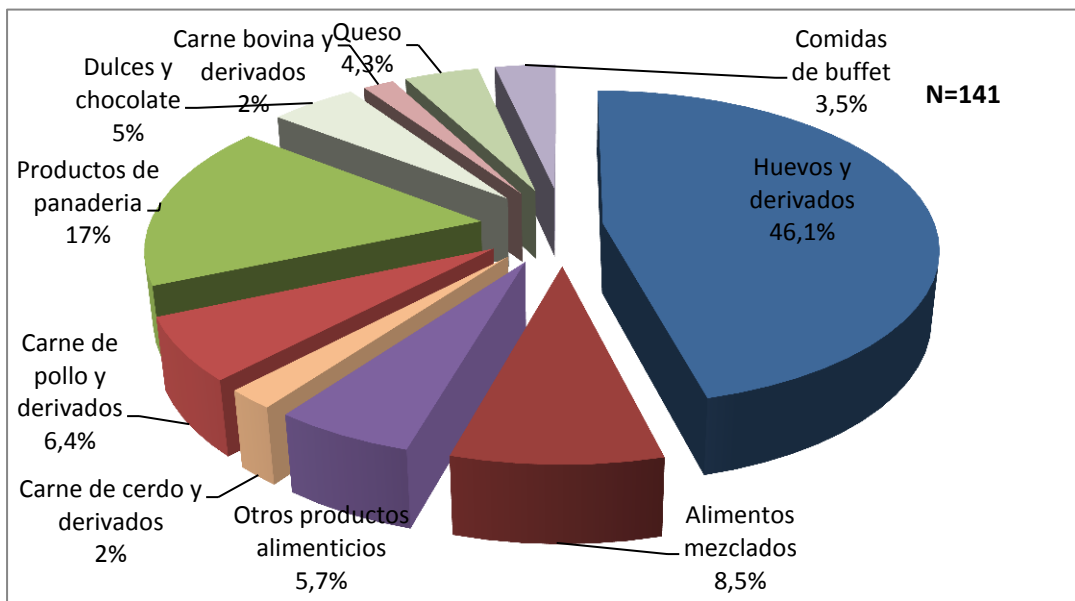


Gráfico 4: Distribución de los brotes alimentarios con elevadas evidencias causados por *Salmonella* Enteritidis en la UE para 2014. Fuente: elaboración propia basada en EFSA, 2015b.

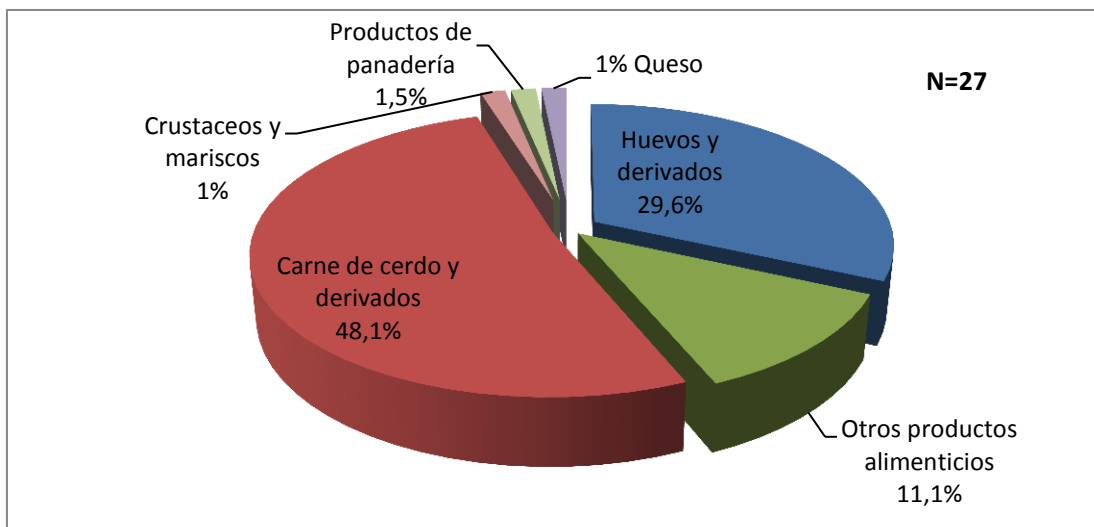


Gráfico 5: Distribución de los brotes alimentarios con elevadas evidencias causados por *Salmonella* Typhimurium en la UE para 2014. Fuente: elaboración propia basada en EFSA, 2015b.

El origen de la mayoría de los brotes de toxiinfecciones alimentarias durante el año 2014 sigue siendo como en años anteriores la presencia de *Salmonella* spp. en huevos y derivados (EFSA 2015b), no obstante, la carne de cerdo ha pasado a ser en los últimos años una fuente importante de contaminación para el ser humano, aunque, y a pesar de las técnicas desarrolladas, todavía es difícil estimar la proporción de casos de salmonelosis humana atribuibles a un contagio por carne de cerdo (Berends *et al* 1998; Wegener *et al.*, 1994; EFSA, 2010a.; EFSA 2010b; Cai *et al.*, 2016). Hay que destacar los éxitos logrados en el control de *Salmonella* spp., desde la implantación de programas nacionales de vigilancia y control de *Salmonella* spp., ya que desde el año 2008 los casos se han reducido significativamente (EFSA, 2014a; EFSA, 2015b).

En la UE se analizaron en el año 2014 un total de 68.134 unidades de carne fresca de cerdo, de las cuales un 0,49% dieron positivo en *Salmonella* spp. (Tabla 10).

Estas muestras, con origen en diversos EM, se tomaron de canales, carne fresca y en diferentes fases de la cadena alimentaria de la carne (matadero, comercios, plantas de procesamiento y otras).

Tabla 10: *Salmonella* spp. en carne fresca de cerdo en muestras de matadero, salas de despique y procesado y comercio minorista analizadas en la UE en 2014. Fuente: elaboración propia con datos de EFSA, 2015b.

Lugar de muestreo	Analizadas	Positivas	Porcentaje positivas
Total comercios	1.255	16	1,27
Total planta de procesamiento	9.784	40	0,41
Total Matadero	57.095	281	0,49
Total (EM)	68.134	337	0,49

Los resultados de los análisis muestran que la presencia de *Salmonella* spp. en las muestras de carne de cerdo es más destacada en los comercios.

Si atendemos a la presencia de *Salmonella* spp. en los productos cárnicos (Tabla 11), en general vemos que la presencia de *Salmonella* spp. es ligeramente superior en el caso de las plantas de procesamiento.

Tabla 11: *Salmonella* spp. en productos a base de carne picada, preparados cárnicos y productos cárnicos de carne de cerdo analizadas en la UE en 2014. Fuente: elaboración propia con datos de EFSA 2015b.

Lugar de muestreo	Analizadas	Positivas	Porcentaje positivas
Lote	659	0	0
Muestra unitaria	2.804	21	0,75
Total comercios	3.463	21	0,61
Lote	7.137	74	1,04
Muestra unitaria	9.446	54	0,57
Total plantas de procesamiento	16.583	128	0,77
Lote	4	0	0
Muestra unitaria	209	0	0
Total sin especificar	213	0	0
Lote	7.800	74	0,95
Muestra unitaria	12.459	75	0,6
Total (EM)	20.259	149	0,74

En el informe presentado por la EFSA sobre la presencia de *Salmonella* spp. en alimentos analizados en la UE en 2014, podemos observar que la presencia de *Salmonella* spp. es más destacada en la carne de ave picada y productos cárnicos a base de carne de ave que necesitan ser cocinados (7,55% y 1,69% de positivos respectivamente), seguida de la carne picada y preparados cárnicos de otras especies (1,08%).

En lo que respecta a la presencia de *Salmonella* spp. en alimentos analizados en **España**, si se observan los datos que comunicó España en su informe de 2013 (Tabla 12) se puede comprobar que la carne de pollo y sus derivados con un 8,8% y la carne de cerdo con un 7,4% son las principales fuentes de *Salmonella* spp.

Tabla 12: Alimentos analizados para la presencia de *Salmonella* spp. en 2013. Fuente: elaboración propia basada en el Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas 2013 (MAGRAMA, 2013).

Alimento	Unidades analizadas	Positivos	(%)
Carne de ave y derivados	591	52	8,8
Carne de bovino y derivados	413	24	5,8
Carne de cerdo y derivados	1.385	102	7,4
Carne no especificada	2.149	90	4,2
Huevos y ovoproductos	1.032	25	2,4
Leche y productos lácteos	830	14	1,7
Otros*	1.274	15	1,2
Comida preparada	4.550	31	0,7
Total	12.224	353	2,9

*Otros: incluye pescado, moluscos bivalvos, germinados, frutas, zumos y productos alimenticios destinados a una alimentación especial.

Alimentos implicados en brotes de campilobacteriosis

En los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos asociados a *Campylobacter* spp. declarados por la UE en 2014, la carne de ave (con un 52% de los casos), es considerada como en años anteriores la principal fuente de contagio de la enfermedad en la mayoría de los casos por malas prácticas en la preparación de comidas que dan lugar a contaminaciones cruzadas y por consumo de carne de ave poco cocinada (Gráfico 6) (EFSA, 2015b).

La carne de cerdo y de rumiantes, presenta un riesgo más bajo, pero el consumo de las vísceras de estos animales podría presentar un riesgo considerable. La mayoría de los brotes se dan en la restauración colectiva, seguida del ámbito doméstico.

Otros alimentos implicados se pueden observar en la siguiente el siguiente gráfico:

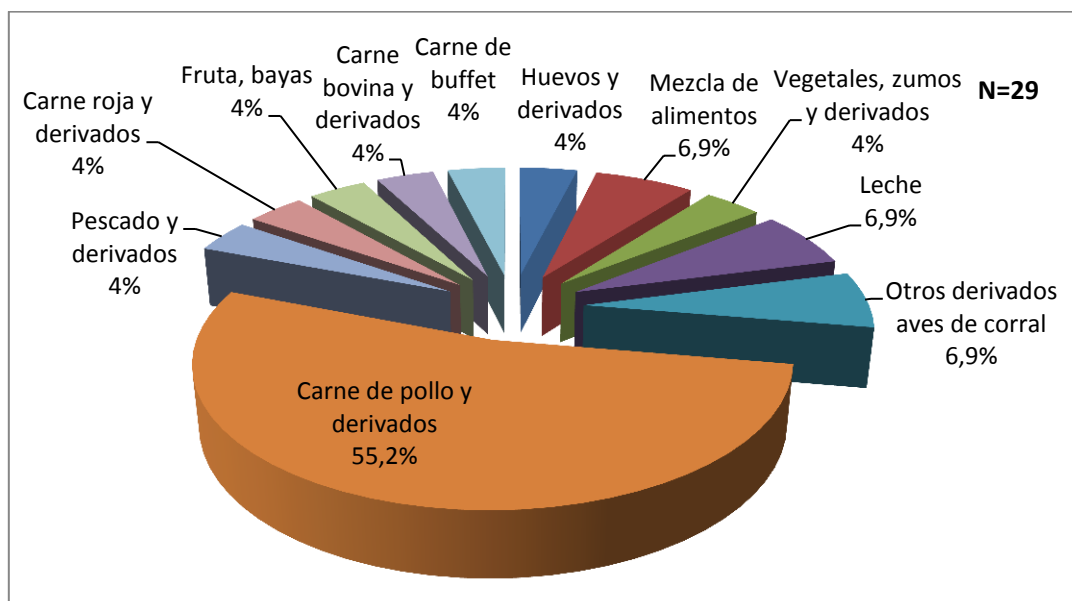


Gráfico 6: Distribución de los brotes alimentarios causados por *Campylobacter* spp. (excluyendo los brotes en aguas) para la UE en 2014. Fuente: elaboración propia basada en EFSA 2015b.

En las siguientes tablas se muestran datos del informe de la EFSA (EFSA, 2015b), de aquellos países que han notificado datos sobre analíticas de productos. En primer lugar, se muestran datos sobre analíticas realizadas en carne fresca y canales en comercio minorista, plantas de procesado y matadero; y en segundo lugar analíticas realizadas en productos cárnicos.

En la Tabla 13 podemos observar que la presencia más elevada de *Campylobacter* spp. en la UE para la carne de cerdo se da en el matadero, seguido, de la planta de procesamiento.

Tabla 13: *Campylobacter* spp. en carne fresca de cerdo en muestras de matadero, salas de despique y procesado y comercio minorista analizadas en la UE en 2014. Fuente: Elaboración propia con datos de EFSA 2015b.

Lugar de muestreo	Analizadas	Positivas	Porcentaje positivas
Total Comercio	799	4	0,5
Total Matadero	636	62	9,75
Total Planta de procesamiento	358	11	3,07
Total (EMs)	1.793	77	4,29

Sin embargo, en los análisis realizados para la detección de *Campylobacter* spp. para los productos cárnicos a base de carne de cerdo, no se ha detectado ninguna presencia de *Campylobacter* spp. (Tabla 14).

Tabla 14: *Campylobacter* spp. en muestras analizadas de productos listos para el consumo a base de carne de cerdo en la UE en 2014. Fuente: elaboración propia con datos de EFSA 2015b.

Etapa de muestreo	Analizados	Positivos	% Positivos
Lote	0	0	0
Muestra unitaria	18	0	0
Total Comercio	18	0	0
Lote	82	0	0
Muestra unitaria	1	0	0
Total Planta de procesamiento	83	0	0
Lote	0	0	0
Muestra unitaria	18	0	0
Total sin especificar	18	0	0
Lote	82	0	0
Muestra unitaria	37	0	0
Total (EMs)	119	0	0

En el informe presentado por la EFSA sobre la presencia de *Campylobacter* spp. en alimentos analizados en la UE en 2014, podemos observar que la presencia de *Campylobacter* spp. es más destacada en la carne de pollo ya que de 6.703 muestras analizadas, 2.574 fueron positivas, constituyendo una tasa de positividad del 38,4% (EFSA, 2015b).

Si se observan los datos que aportó **España** en su informe de 2013 (Tabla 15), se puede comprobar que la carne de pollo con un 53,9% de muestras positivas continúa siendo la principal fuente de *Campylobacter* spp. en los alimentos.

Tabla 15: Muestras de alimentos analizadas y positivas a *Campylobacter* spp. en 2013. Fuente: elaboración propia con datos del Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas, 2013 (MAGRAMA 2013).

Producto	Unidades analizadas	Positivos	% Positivos
Carne de pollo	167	90	53,9
Carne de otras aves	22	7	31,8
Carne de cerdo	144	13	9,0
Carne de otras especies	274	38	13,9
Leche	61	0	0

Brotos de toxiinfecciones alimentarias en la Comunidad Valenciana 2014.

Según el informe sobre brotes de enfermedades en la CV durante el año 2014 el número total de toxiinfecciones alimentarias que se declararon en la CV fue de 36, lo que supone un incremento del 20% respecto al año 2013. La mayoría de los brotes, concretamente el 80%, se concentra en las grandes ciudades como Valencia, Castellón, Alicante y Elche.

El número total de enfermos asociados a estos brotes es de 698 casos, con 29 hospitalizados y sin ningún caso de fallecimiento, esto supuso un incremento del 60% respecto al año anterior (Dirección General de Salud Pública (DGSP), 2015).

Respecto a la evolución de los brotes se observa una tendencia descendente entre el periodo correspondiente entre los años 2006-2014, con algún ligero repunte como se puede observar en el Gráfico 7.

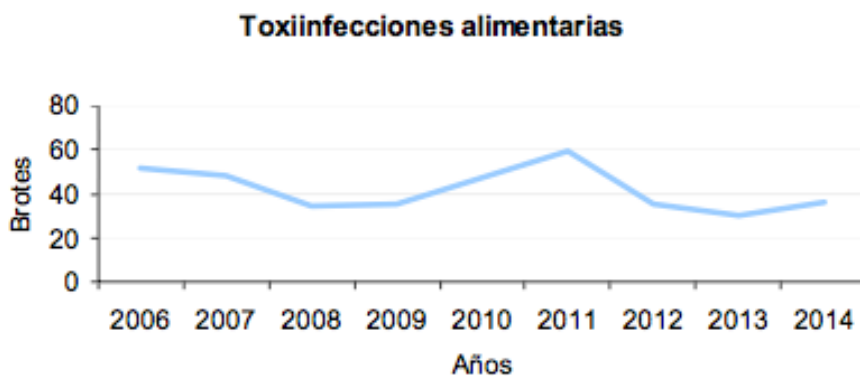


Gráfico 7: Evolución de las toxiinfecciones alimentarias para el periodo 2006-2014. Año 2014. Fuente: DGSP, 2015.

Cabe destacar que la mayoría de los brotes, como viene siendo habitual, se produjeron durante los meses de más calor: junio, julio y agosto.

En referencia a los alimentos implicados en estos brotes hay que comentar que un 19% fueron de origen desconocido, el resto se pudo asociar al consumo de algún alimento. Los principales alimentos implicados en brotes durante el año 2014, fueron en orden decreciente, las verduras y cereales, de origen desconocido, huevos, carne, contaminación cruzada, pescado y marisco y, por último, repostería.

De los 36 brotes, 21 fueron diagnosticados con confirmación laboratorial y de estos prácticamente el 50% fueron producidos por *Salmonella* Enteritidis, concretamente la bacteria fue aislada en 10 brotes. La mayoría de los brotes se localizaron, en el ámbito de la restauración con 17 brotes seguido del doméstico con 10 (DGSP, 2015).

3. *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. EN EL SECTOR PORCINO.

3. *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. EN EL SECTOR PORCINO.

3.1. EL SECTOR PORCINO EN CIFRAS.

Anteriormente hemos descrito que las enfermedades transmitidas por consumo de alimentos, son un grupo de afecciones ligadas a un modo de transmisión común. Este tipo de enfermedades tienen la particularidad de impactar sobre la sociedad provocando distintas situaciones de importancia, la primera y principal sobre la salud de las personas con importantes índices de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, la segunda, aunque en un plano totalmente distinto, pero también de gran relevancia, la repercusión de estas enfermedades en la industria agroalimentaria.

A nivel económico hay que considerar dos puntos totalmente diferentes: por un lado, los gastos ocasionados a nivel hospitalario por el cuidado de estas personas, así como las bajas laborales asociadas a la enfermedad; y por otro la posible repercusión sobre la economía de un país, asociada a las pérdidas y los gastos que se puedan originar en la industria agroalimentaria, tanto en la producción primaria como en la industria de transformación posterior.

En relación a este último punto se han recopilado una serie de datos sobre el sector porcino en la actualidad, que nos pueden ser de utilidad para poder valorar la posible repercusión económica en un futuro si se modificaran las exigencias sanitarias referidas a la presencia de microorganismos patógenos en las canales de porcino.

El sector porcino en la Comunidad Valenciana.

En la CV, según datos no publicados, aportados por la Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural, existen actualmente 934 explotaciones porcinas, de las que el mayor número corresponde a cebaderos, con 712 explotaciones, seguidas de las explotaciones de madres con 66 explotaciones, ciclo cerrado con 59 explotaciones y producción mixta con 58 explotaciones, el resto se corresponden con cría de madres reproductoras, centros de inseminación y transición de lechones (ver Tabla 24 del Anexo 7). Este sector es considerado de gran importancia dentro de la ganadería de la CV, sobre todo en zonas rurales de la provincia de Castellón, donde se concentra el mayor número de explotaciones y censo porcino.

El sector porcino en España.

El sector porcino supone en España el 12,4% de la producción final agraria, y dentro de las producciones ganaderas ocupa el primer lugar en cuanto a su importancia económica representando el 34,2% de la producción final ganadera (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA, 2015).

Por lo que respecta al número de explotaciones en el estado español por comunidades autónomas (CCAA) (Gráfico 8), se observa que Galicia, Andalucía y Extremadura presentan los números más elevados de explotaciones porcinas, representando entre las tres el 79,4% de todas las explotaciones del país. Por su parte, Madrid y La Rioja tienen el menor número de explotaciones, si tenemos en cuenta que Ceuta y Melilla solo disponen cada una de una explotación porcina en su territorio (MAGRAMA 2015).

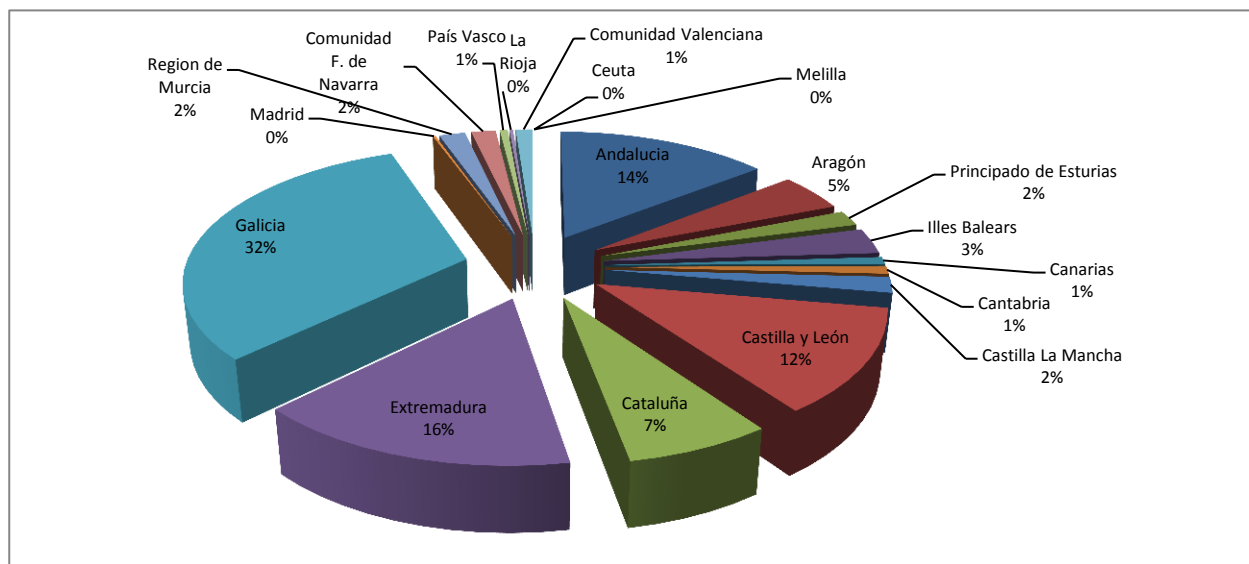


Gráfico 8: Número de explotaciones de ganado porcino en España: distribución por comunidades autónomas para 2014. Fuente: elaboración propia basada en MAGRAMA, 2015.

Si atendemos al número de explotaciones diferenciadas por sistema productivo (extensivo e intensivo), observamos que predomina el sistema intensivo, representando el 79,4% de todas las explotaciones. Sin embargo, en el caso de Extremadura y Andalucía las cifras de los dos tipos de explotaciones están casi igualadas, por la producción de cerdo ibérico, al contrario que el caso de Galicia donde la presencia de explotaciones extensivas con respecto a las intensivas es prácticamente inexistente.

A pesar de que el sistema intensivo de producción es mayoritario, se observa un ligero incremento de los sistemas extensivos de producción en el periodo 2007-2014 y una reducción significativa (en 13.847 explotaciones) en el sistema intensivo de producción.

Los últimos datos de los que se dispone muestran que el censo porcino ha ido aumentando para el periodo señalado, presentando 1668 cabezas más. Este aumento corresponde principalmente a lechones (20 kg), con un aumento de 1.116 animales. Si se diferencia por CCAA vemos que este aumento en el censo porcino lo aporta principalmente Aragón que aumenta en 1251 animales su censo para el periodo 2007-2013.

Sector porcino en la UE.

Las cifras del sector porcino en la UE reflejan que Alemania, España y Francia son los países que presentan un mayor número de cabezas de ganado porcino en la UE. Sólo Alemania y España poseen el 37,1% de todos los animales en la UE. Sin embargo, la evolución de la cantidad de animales por países en el periodo 2007-2014 ha sido muy diferente. Mientras que Alemania ha mantenido prácticamente el mismo número de animales, España aumenta en un 59,4% el número total de animales para el mismo periodo.

Francia y Dinamarca seguirían en el *ranking* de países productores a los dos primeros, pero con cifras menores. Por su parte Luxemburgo y Malta presentan las cifras más discretas (MAGRAMA, 2015).

El sector porcino a nivel mundial.

A nivel mundial, China y la UE son los principales productores de carne porcina, ya que solo entre los dos producen el 71,4% del volumen total mundial, (52,2% y 20,2% respectivamente), seguidos por Estados Unidos con un 9,4% y Brasil con un 3%. El resto de países del mundo se sitúan detrás con una producción que oscila entre el 2,5% y el 1%. En todos ellos se observa un incremento de la producción desde el año 2006 hasta el año 2014 (MAGRAMA, 2015) (ver Tabla 25 Anexo 8).

Con todos estos datos podemos concluir que el sector porcino tiene una gran importancia económica tanto a nivel del estado español como en la Unión Europea. Hay que tener en cuenta que en ocasiones las enfermedades pueden ser utilizadas como barreras comerciales por parte de los países importadores causando esto un gran perjuicio económico al sector. Las exigencias sanitarias impuestas por estos pueden afectar tanto a los mercados intracomunitarios (dentro de la UE) como a los mercados con terceros países. Así, países con planes específicos de control de *Salmonella* spp. como Suecia o Finlandia ponen requisitos para las importaciones de carne como la analítica de *Salmonella* spp. en origen y destino (excepto la carne destinada a tratamiento térmico). Por lo que respecta a las exigencias sanitarias en los países terceros la mayoría se centra actualmente en enfermedades como, la Peste Porcina Clásica (PPC); Peste Porcina Africana (PPA); Fiebre Aftosa (FA), pero también en enfermedades como *Aujeszky* y Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS, en sus siglas inglesas). No obstante, las condiciones para la exportación pueden variar y los países importadores pueden incrementar los requisitos sanitarios, poniendo condiciones más restrictivas a la entrada de productos (Abenia, 2006). Por lo tanto, poner en marcha programas específicos para la monitorización y control de estos patógenos, sobre todo de *Salmonella* spp., con programas ya implantados en otros países de la UE, además de los beneficios indudables para la Salud Pública, puede facilitar en un futuro, que no se impida el acceso a distintos mercados de la carne y los productos cárnicos porcinos elaborados en la CV, ya que la sanidad como hemos comentado anteriormente se utiliza como un limitante del comercio.

3.2. INFECCION POR *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. EN EL CERDO.

Infección por *Salmonella* spp. en cerdo.

Las serovariedades que más afectan al ganado porcino, son *S. Typhimurium* y *S. Cholerasuis* (serotipo adaptado a porcino). Por lo que respecta a las manifestaciones clínicas pueden ser de dos tipos: **forma entérica** y **forma septicémica**.

La presentación más común en Europa de la infección por *Salmonella* spp. es la forma **entérica**, atribuida principalmente al serotipo *S. Typhimurium* (EFSA 2010b; EFSA 2008a; EFSA 2015b). La forma entérica afecta principalmente a cerdos de entre 6 y 12 semanas de edad, aunque durante el periodo de transición y cebo se pueden presentar también casos. Los signos clínicos que la caracterizan son la enterocolitis que cursa con diarrea acuosa verde-amarillenta, la letargia, inapetencia y fiebre, apareciendo tras 48 horas después de la infección, y resolviéndose en un periodo de entre 7 y 10 días (Fedorka-Cray *et al.*, 1994). Si bien la morbilidad de la infección puede presentar valores elevados, no así la mortalidad, que suele ser nula o muy baja (Wilcock y Schwartz, 1992; Paulin *et al.*, 2007).

Respecto a la presentación septicémica de la salmonelosis porcina, esta es provocada principalmente por el serotipo adaptado al cerdo, *S. Cholerasuis*. La infección afecta a ganado porcino de cualquier edad, aunque en los animales más jóvenes se da unas mayores tasas de mortalidad (Paulin *et al.*, 2007). La sintomatología de esta infección viene caracterizada por respiración superficial o diafragmática, disnea y tos húmeda, así como cianosis en la parte distal de las extremidades, inapetencia, letargia o fiebre, y diarrea en algunos casos. La aparición de estos signos se produce tras las 24 y las 36 horas tras la infección y se resuelven en un periodo de 14 días (Reed *et al.*, 1986; Gray *et al.*, 1996) y la mortalidad y morbilidad de esta presentación son variables (Reed *et al.*, 1986; Wilcock y Schwartz, 1992; Paulin *et al.*, 2007).

Aparte de *S. Cholerasuis*, los cuadros clínicos septicémicos también pueden estar provocados por otros serotipos como *S. Typhimurium*, que en infecciones experimentales induce un cuadro clínico similar, llegando incluso a provocar la muerte de los cerdos (Fedorka-Cray *et al.*, 1994; Collazos, 2008). En cualquier caso, esta forma septicémica de la enfermedad es rara en la UE, donde el serotipo *S. Cholerasuis* es poco prevalente. Por el contrario, en países de América, entre ellos EE.UU., no es infrecuente la aparición de esta forma clínica en las granjas porcinas.

Los cerdos se pueden contagiar bien por contacto directo a través de animales infectados o bien por contacto indirecto por medio de vectores, alimentos y agua contaminados, paramentos con falta de higiene y presencia de la bacteria, etc. (Fernández *et al.*, 2006). La vía principal por la que la *Salmonella* spp. se transmite es la fecal-oral. Una vez *Salmonella* spp. ha entrado vía oral comienza la colonización del tracto intestinal, y su aparición en las heces del huésped puede observarse a las dos horas (Hurd *et al.*, 2001a).

No se conoce con exactitud la dosis mínima necesaria para reproducir la infección. Pero los estudios experimentales disponibles afirman que tras la inoculación de 10^6 UFC (Dawe y Troutt, 1976) consiguieron reproducir una enfermedad. Por su parte Loynachan y Harris (2005) concluyeron que valores superiores a 10^3 UFC podrían producir una infección en cerdos, permitiendo aislar *Salmonellas* spp. tanto en tejidos relacionados con el tracto digestivo como en otros no relacionados.

Sin embargo, en condiciones naturales, todo parece apuntar a que la dosis necesaria para producir una infección es menor a los resultados obtenidos en los experimentos, ya que habría factores implicados en la transmisión natural que son difícilmente reproducibles en condiciones de laboratorio. Una vez se alcanza la fase aguda de la infección se da una presencia muy elevada de bacterias en las heces. Se estima que se puede alcanzar las 10^7 UFC/g de heces (Gutzmann *et al.*, 1976), lo que supone un riesgo en la infección del espacio donde se encuentra el animal y la transmisión al resto de animales.

Tras la infección se ha detectado que una gran cantidad de cerdos presentan un estado de portador, lo que significa que la bacteria puede permanecer viable en determinados órganos o tejidos, como los ganglios linfáticos mesentéricos (Wood *et al.*, 1989). La peligrosidad, por lo tanto, radica en que a pesar de ser animales aparentemente sanos tienen la capacidad potencial de eliminar la bacteria en situaciones de estrés o inmunodepresión. Respecto a otras vías de infección, no se puede obviar la transmisión por vía respiratoria y su capacidad en poco tiempo de diseminar la bacteria al resto de órganos del cuerpo del cerdo. Según diversos autores (Fedorka-Cray *et al.*, 1995; Proux *et al.*, 2001; Oliveira *et al.*, 2006), la inhalación de aerosoles o de partículas de polvo contaminadas con *Salmonella* spp. permite la colonización por parte de la bacteria tanto de las tonsilas como de los pulmones. A partir de estos órganos comenzaría la diseminación a otros órganos del cuerpo, siendo posible localizar *Salmonella* spp. en el tracto digestivo, ganglios linfáticos adyacentes. Esta vía de entrada resulta importante si tenemos en cuenta la gran capacidad que presenta *Salmonella* spp. para sobrevivir largos periodos de tiempo en aerosoles (McDemid y Lever, 1996).

Patogenia e inmunidad.

La patogenia de la salmonelosis puede dividirse en dos fases: la primera se localiza en el intestino y en el tejido linfoide asociado al mismo; la segunda, llamada fase sistémica (que no se da en todos los casos), en la que la bacteria se disemina, por el torrente circulatorio, desde los ganglios linfáticos hacia otros órganos. En función de la vía de entrada, *Salmonella* spp. se enfrentará a condiciones adversas. Para el caso de la entrada por vía oral estas condiciones adversas serían el pH ácido del estómago, las sales biliares, la microbiota intestinal, etc. Sin embargo, y como señala Álvarez-Ordoñez *et al.* (2011a, 2011b), la bacteria presenta una serie de mecanismos para hacer frente a estas condiciones, tales como la respuesta de tolerancia a ácidos, la adaptación a ambientes anaerobios o la batería de componentes genéticos que le permiten sobrevivir en ambientes de concentraciones elevadas de sales biliares y osmolaridad.

Una vez superadas las condiciones adversas, *Salmonella* spp. alcanza la porción distal del intestino delgado, adhiriéndose a las células epiteliales de la mucosa mediante sus fimbrias (Dibb-Fuller *et al.*, 1999; Vimal *et al.*, 2000). *Salmonella* spp. presenta especial tropismo por las células M de las placas de Peyer presentes en el íleon, aunque también puede invadir enterocitos (Ginocchio *et al.*, 1994) o penetrar entre las células intestinales, alcanzando la lámina propia mediante tránsito para-celular. Una vez adherida a estas células, introducirá en las mismas una serie de proteínas que van a reorganizar el citoesqueleto dando lugar a una endocitosis (Zhou y Galán, 2001). Tras esta interacción, se dará una concentración elevada de neutrófilos induciendo a la producción de citoquinas proinflamatorias, que provocaran cambios que afectan a la modulación en la secreción de cloro y a la directa aparición de la diarrea (Eckmann *et al.*, 1997). *Salmonella* spp. produce una inflamación y una alteración de la microbiota intestinal normalmente implicada en la provisión de una barrera protectora frente a patógenos (Drumo *et al.*, 2016).

La inflamación producida tras esta reacción, aumentará la permeabilidad vascular y generará un edema en la mucosa, así como una transmigración de células inflamatorias a la luz intestinal. Se localizarán, además, daños en la superficie del epitelio intestinal, que pueden ir desde ulceración hasta destrucción de la mucosa (Ekperigin y Nagaraja, 1998), facilitando la salida de fluidos extravasculares y, consecuentemente el cuadro clínico de diarrea (Zhang *et al.*, 2003). La fase sistémica se iniciará cuando *Salmonella* spp. alcance la lámina propia sea fagocitada por los macrófagos. El mantenimiento de la infección por *Salmonella* spp. se basará en la capacidad que tenga esta para sobrevivir y multiplicarse en el interior de los macrófagos (Hensel, 2000).

Las causas más frecuentes de la aparición de la enfermedad en las explotaciones porcinas son la mezcla de animales, introducción de portadores asintomáticos en las explotaciones (que en condiciones de estrés secreten bacterias), falta de higiene, hacinamiento, presencia de vectores en granjas (roedores, insectos, pájaros), piensos contaminados, botas y ropas contaminadas.

La presencia de portadores asintomáticos activos en las explotaciones con eliminación constante o intermitente de bacterias (Beloeil *et al.*, 2003), constituye un factor fundamental desde el punto de vista epidemiológico para el control de la enfermedad, también hay que tener en cuenta a los portadores denominados latentes donde la *Salmonella* spp. se encuentra acantonada en ganglios mesentéricos y amígdalas (Wood *et al.*, 1989). En ambos casos cualquier situación de estrés puede desencadenar la enfermedad en el portador y contribuir a su diseminación (Fernández *et al.*, 2006).

Infección por *Campylobacter* spp. en el cerdo.

Campylobacter spp. encuentra uno de sus principales reservorios en los animales (tanto de producción, silvestres como de compañía, aunque principalmente aves), comportándose como un comensal intestinal que no causa enfermedad de forma primaria (ELIKA, 2013). De esta manera, los animales se comportan como portadores asintomáticos, presentando la enfermedad clínica en raras ocasiones (OIE, 2008b).

Campylobacter spp. presenta una alta prevalencia en ganado porcino (Wehebrinkt *et al.*, 2008; Nathues *et al.*, 2013) siendo *C. coli* la especie aislada más frecuentemente en el contenido intestinal del cerdo (Alexandrina y Botos, 2008; Nesbakken *et al.*, 2003), aunque también se observa bastante prevalencia de *C. jejuni* (Harvey *et al.* 1999).

Por lo general, cursa de forma asintomática en cerdas, transición y cebo, sin embargo, en cerdos lactantes sin acceso a calostro, puede producir fiebre, diarrea que en ocasiones presenta sangre y mucosidad, deshidratación y pérdida de condición corporal.

Como se ha descrito anteriormente para el caso de *Salmonella* spp. los factores como la falta de higiene, suelos sucios y húmedos, hacinamiento, ciclos continuos sin vacíos sanitarios, infecciones secundarias a microorganismos entéricos, etc. pueden favorecer la presencia del patógeno.

3.3. PREVALENCIA DE *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. EN PORCINO.

Según los datos del *Informe de Fuentes y Tendencias de Zoonosis y Agentes Zoonóticos para el año 2013* (EFSA, 2013) remitido por **España** a la EFSA para determinar la prevalencia de *Salmonella* spp. en cerdos durante el año 2013, en España se tomaron muestras en varios mataderos distribuidos por la geografía española con la condición de que fueran representativos. Se obtuvieron 460 muestras en 230 lotes de cerdos en mataderos, de estas, resultaron positivas 69 lo que nos indica una prevalencia del 30% en lotes de cerdos en mataderos, manteniéndose la prevalencia en porcino como en años anteriores. En el mismo informe para el año 2014, España comunica la misma metodología y los mismos datos de prevalencia que para el año anterior (EFSA, 2014b).

Por lo que respecta a la prevalencia de *Salmonella* spp. en ganado porcino en Europa, el informe científico de la EFSA y el Centro Europeo para el Control de Enfermedades (ECDC) *Informe de la UE de tendencias y fuentes de zoonosis, agentes zoonóticos y brotes alimentarios en 2014* (EFSA, 2015b) señala que la prevalencia de *Salmonella* spp. para el ganado porcino en el año 2014 fue del 7,9% lo que supone una disminución respecto al año 2013 que presentaba el 8,1%. Esto muestra una tendencia descendente durante el año 2014 ya que en el año 2013 se produjo un incremento con respecto al año 2012.

En las piaras y en los lotes analizados en mataderos la prevalencia de *Salmonella* spp. para el año 2014 fue de un 10,1% y de un 7,7% respectivamente (Tabla 16). Durante el año 2013 la prevalencia en las piaras fue de un 14% y a nivel individual la prevalencia fue del 7,4% (EFSA, 2015a).

Tabla 16: *Salmonella* spp. en ganado porcino, datos de programas de monitorización para la UE durante 2014. Fuente: elaboración propia con datos de la EFSA 2015b.

Origen de la muestra	Analizadas	Porcentaje positivas
Alojamientos	1	0
Piara	4.234	10,13
Animales	47.612	7,73
Total (EMs)	51.847	7,93

Tanto en la producción primaria, como, en la toma de muestras de superficies de canales no se suele realizar el serotipado, en los criterios de higiene de proceso introducidos en el año 2014 (muestras en canales de mataderos) no se requiere el serotipado de las muestras aisladas, esto puede cambiar próximamente si se aprueban futuros programas de control nacionales.

Durante el año 2014, solo 10 estados miembros aportaron datos de *Salmonella* spp. en cerdos, siendo menos que en años anteriores, ya que en los años 2013 y 2012 fueron 16 estados los que aportaron datos.

Del total de 2.037 aislamientos de *Salmonella* spp. en cerdos notificados, el 54,7% pertenecían a *S. Typhimurium*, que es a su vez el serotipo predominante en los últimos 5 años. En segundo lugar, aparece *S. Derby* con el 17,5%, seguido de *S. Typhimurium* monofásico con el 8,4%. *S. Choleraesuis* no se encuentra entre los 10 serotipos más notificados, en años anteriores Rumania y Estonia aportaron datos sobre este serotipo, aunque hay que destacar que Rumania no ha comunicado datos en el año 2014 (EFSA, 2015b).

En el *Informe de Fuentes y Tendencias de Zoonosis y Agentes Zoonóticos para el año 2013 en España* (EFSA, 2013) se indica que durante ese año se pusieron en marcha programas de monitorización para *Campylobacter* spp. en broilers, terneros y cerdos. Como en el caso anterior de la *Salmonella* spp. se tomaron 460 muestras en 230 lotes de cerdos en mataderos, resultando positivas 144 lo que supone una prevalencia del 62,6% en lotes de cerdos en mataderos; manteniéndose la prevalencia como en años anteriores. En el mismo informe para el año 2014, España comunica la misma metodología y los mismos datos de prevalencia que para el año anterior (EFSA, 2014b).

Durante el año 2014 en Europa 20 estados miembros y 3 no miembros aportaron datos de presencia de *Campylobacter* spp. en animales, principalmente en pollos broilers, pero también en pavos, cerdos, vacuno, cabras, ovejas, caballos, gatos, perros y fauna silvestre. De estos solo tres estados miembros aportaron datos para porcino, tanto a nivel individual, como a nivel de piaras. La mayor parte de las muestras (80%) fueron notificados por un estudio holandés, en este estudio de 3.216 muestras no se encontró ningún positivo. Alemania tomó 675 muestras en animales con un 7,7% de positividad y 121 muestras en piaras con un 23,1% de positividad. En total durante el año 2014 de 4.013 muestras, 81 dieron positivo a *Campylobacter* spp. lo que supone una tasa del 2,02% de positividad (EFSA, 2015b).

Para el caso del ganado porcino durante el año 2013 se analizaron 4.471 muestras en cerdos en diversos EM, dando positivo 442 muestras a *Campylobacter* spp. lo que supuso una tasa del 9,89% (EFSA, 2015a).

3.4. PROGRAMAS DE VIGILANCIA Y CONTROL DE ZONOSIS EN LA PRODUCCIÓN PRIMARIA MARCO LEGISLATIVO.

Como es sabido la normativa comunitaria sobre higiene alimentaria, tiene como principal objetivo el control de toda la cadena alimentaria con la frase «de la granja a la mesa», y de este modo proteger la salud humana evitando posibles brotes de infecciones e intoxicaciones procedentes de los alimentos.

La 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, obligó a los estados miembros a controlar determinadas zoonosis e informar a nivel nacional y a nivel europeo de la situación de este tipo de enfermedades, así como de las medidas preventivas y de control implantadas. Posteriormente y con el fin de garantizar la Seguridad Alimentaria, la Comisión Europea elaboró un informe en el que se indicaba las medidas a adoptar para el control de las zoonosis, y las infecciones alimentarias destacando la necesidad de implantar medidas de control en todas las fases de la cadena alimentaria: desde la granja (con todos los *inputs* aplicables a la producción animal), pasando por la transformación y distribución de los productos de origen animal, hasta la fase de consumo. Se concluyó que, además de la vigilancia habitual, pueden ser necesarios programas específicos ante determinadas zoonosis.

Como consecuencia de esto se publicó la Directiva 2003/99/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos y el Reglamento (CE) n° 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre el control de *Salmonella* spp. y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por alimentos.

Esta normativa ha sido incorporada al ordenamiento jurídico español por medio del Real Decreto 1940/2004, de 27 de septiembre, sobre la vigilancia e las zoonosis y agentes zoonóticos. El Reglamento (CE) n° 2160/2003, sienta las bases, para la elaboración de programas de control de agentes zoonóticos transmitidos por alimentos, en especial en los animales de granja, introduciendo programas que son aplicados por los estados miembros para el control de estas enfermedades, estableciendo un marco global para el control de las mismas.

Todos los años la EFSA y el ECDC, recogen y analizan todos los datos e informes que aporta cada estado miembro sobre la situación en su país y elaboran el *Informe Comunitario de Fuentes y Tendencias de Zoonosis, Agentes Zoonóticos, Resistencias Antimicrobianas y Brotes de Enfermedades de Origen Alimentario de la UE*. La recopilación de estos datos a nivel de los estados miembros es una parte crucial de la labor de la EFSA, ya que permiten el conocimiento sobre la situación actual en cada estado miembro, así como la situación global de la UE. Su conocimiento contribuye a la evaluación de los riesgos realizada por la EFSA, así como a la elaboración de los criterios de vigilancia sobre los mismos, y su posterior comunicación a los gestores de los riesgos y a los distintos Estados miembros de la Unión Europea.

Este informe se divide en varios apartados:

1. Información sobre zoonosis específicas y agentes zoonóticos (en hombre, animales, alimentos y piensos).
 - **Zoonosis y agentes zoonóticos que deben ser objeto de vigilancia**, entre las que se encuentran: Salmonelosis, Campilobacteriosis, Equinococosis, Listeriosis, Brucelosis, Triquinosis, Tuberculosis por *Mycobacterium bovis* y *E. coli* verocitotóxica, Yersiniosis, Rabia, Staphylococosis, Fiebre Q y Virus del Este del Nilo.
 - **Zoonosis y agentes zoonóticos que deben ser objeto de vigilancia en función de la situación epidemiológica**, agrupándose en este caso según sean: zoonosis víricas, zoonosis bacterianas, zoonosis parasitarias u otras zoonosis y agentes.
2. Información sobre antimicrobianos.
3. Información sobre brotes de origen alimentario.

Programas de vigilancia y control de Zoonosis, para *Salmonella* spp. en porcino.

Tras la publicación del Reglamento (CE) nº 2160/2003, y posterior puesta en marcha de programas específicos de vigilancia y control en los distintos estados miembros, se obtuvieron resultados muy dispares en la prevalencia de *Salmonella* spp. existiendo países con prevalencias muy bajas (países del norte de Europa) y países con prevalencias medias-altas (países del sur de Europa, principalmente). En la actualidad, dentro de la UE existen países que están implementando programas de control para la *Salmonella* spp., como, por ejemplo: Dinamarca, Irlanda, Reino Unido, Alemania y Holanda, basando los mismos en actuaciones en granjas y mataderos; pero no existe ninguna normativa específica a nivel conjunto de toda la Unión Europea sobre las actuaciones a realizar.

Por lo que respecta a España, no existe en estos momentos un programa de control de *Salmonella* spp. para porcino en granjas. Durante el año 2013 se realizaron programas de monitorización en aves (gallinas de puesta, pavos y broilers), cerdos y terneros, que recopilaban datos sobre la presencia de *Salmonella* spp. Con anterioridad y para poder determinar la situación en que se encontraba la cabaña ganadera porcina en la Unión Europea, se realizaron dos estudios diferenciando si se trataba de cerdos de abasto o de cerdos reproductores, dando como resultado los siguientes informes:

Cerdos de abasto

Se realizó un estudio de referencia sobre la prevalencia entre los años 2006 y 2007, con el objetivo de recabar datos sobre la prevalencia de *Salmonella* spp. en cerdos de abasto sometidos a muestreo en matadero. Los datos obtenidos debían servir para poder determinar los objetivos en la reducción de la prevalencia, el estudio dio lugar al Informe de la EFSA sobre prevalencia de *Salmonella* spp., en cerdos de abasto en EU, 2006-2007, parte A y parte B (EFSA 2008a, EFSA 2008b).

Cerdos reproductores

Se realizó el estudio de referencia sobre la prevalencia, dando lugar a los siguientes documentos:

- Informe EFSA sobre el estudio en piaras de cerdos reproductoras. Estimación de la Prevalencia de *Salmonella* spp. (Parte A) (EFSA 2009b).
- Análisis del estudio de prevalencia basal de *Salmonella* spp. en cerdas reproductoras en la UE, 2008 (Parte B) y factores asociados a la presencia de *Salmonella* spp. en corrales (EFSA 2011b).
- Análisis cuantitativo de riesgos de infección por *Salmonella* spp. en cerdos de engorde y reproductores: Informe final (EFSA, 2010c).

Programas de vigilancia y control de campilobacteriosis en porcino.

Por lo que respecta a *Campylobacter* spp., en la Directiva 92/117/CEE de 17 de diciembre de 1992 la campilobacteriosis se incluía en el Anexo I de la misma, no siendo obligatoria su notificación.

Tras el notable incremento de casos de campilobacteriosis, se vio la necesidad de tomar nuevas medidas y se publicó la Directiva 2003/99/CEE de 17 de noviembre de 2003, en esta la campilobacteriosis pasó a ser agente zoonótico objeto de vigilancia, siendo obligatoria su notificación, pero sin instaurar ningún plan de control con el fin de disminuir la prevalencia; en esta directiva se incluyó también un estudio de resistencias antimicrobianas. Posteriormente la UE planteó la introducción de un programa para poder establecer un estudio fiable sobre prevalencia de *Campylobacter* spp en lotes de pollos de engorde en granjas, matadero y carne de pollo conforme a la Decisión de la Comisión, de 19 de julio de 2007 (2007/516/CE).

Con todos estos datos recopilados la EFSA ha elaborado un informe para así poder implantar medidas de control en granjas de pollo de engorde. En España no existen actualmente programas de control específicos para *Campylobacter* spp. en porcino.

4. *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp.
EN LA CADENA ALIMENTARIA.

4. *Salmonella spp.* y *Campylobacter spp.* EN LA CADENA ALIMENTARIA.

4.1. CONTROL DE *Salmonella spp.* y *Campylobacter spp.* EN LA CADENA ALIMENTARIA. MARCO LEGISLATIVO.

El control de la presencia de *Salmonella spp.* y *Campylobacter spp.* a lo largo de la cadena alimentaria constituye un reto en el momento actual. Con el fin de reunir todas las actividades de control oficial a lo largo de la Cadena Alimentaria y coordinar a todas las autoridades competentes en la misma y en cumplimiento del Reglamento (CE) 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, se elabora el Plan Nacional de la Cadena Alimentaria, este plan con una periodicidad quinquenal, tiene el fin de armonizar los controles oficiales que se realizan para verificar el cumplimiento de la legislación vigente en sanidad y bienestar animal, piensos y alimentación. En la actualidad está en vigor el Plan Nacional de Control Oficial de la Cadena Alimentaria 2016-2020, y en sus distintas secciones se establecen los distintos programas de control que se van a realizar, tanto en el sector primario, como en las etapas posteriores hasta llegar al consumidor final.

Para poder reducir la presencia de *Salmonella spp.* y *Campylobacter spp.* en animales y evitar la contaminación posterior en la carne y los productos cárnicos, se tiene que controlar el riesgo de su presencia tanto en el sector primario como en el transporte, sacrificio, despiece y transformación posterior. Si queremos disminuir o eliminar estos patógenos a un nivel aceptable hay que aplicar en las explotaciones ganaderas estrictas medidas de bioseguridad, así como la implantar guías de buenas prácticas. Debido a las características de estos patógenos, estas medidas tienen que continuar en el resto de manipulaciones posteriores en la fase secundaria de la cadena alimentaria hasta el consumidor, para poder conseguir alimentos inocuos. Esto se puede conseguir implantando sistemas de Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos (APPCC) o Guías de Prácticas Correctas de Higiene.

Anteriormente hemos descrito la normativa aplicable a nivel de producción primaria y los programas de control destinados a reducir la prevalencia en la población animal, basados principalmente en el Reglamento (CE) n° 2160/2003.

Si continuamos hacia delante en la cadena alimentaria (Grafico 9) y superamos la fase de producción primaria hay que considerar otras normativas de aplicación, conforme se va avanzando en el proceso para la obtención de alimentos.



Gráfico 9: Cadena Alimentaria en el sector cárnico porcino. Fuente: elaboración propia.

La Comisión Europea (CE), definió su estrategia para el futuro tras presentar en el año 2000 el *Libro Blanco de Seguridad Alimentaria*, con el principal objetivo de velar por la Seguridad Alimentaria en la UE (CE, 2000).

En el Capítulo 2 se recogen claramente las intenciones del mismo:

«El presente Libro Blanco presenta propuestas que transformarán la política alimentaria de la UE en un instrumento anticipador, dinámico, coherente y global con el propósito de velar por un nivel elevado de salud de las personas y de protección de los consumidores».

Los Principios Generales de la Legislación Alimentaria, están establecidos por los artículos 5 al 10 del Reglamento (CE) n° 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la Seguridad Alimentaria.

Este reglamento, se constituye como el marco legal en el que se va a basar toda la legislación alimentaria futura, y contiene los siguientes conceptos y principios:

- ✓ Principio «De la Granja a la Mesa» por el que se abarca toda la cadena alimentaria.
- ✓ Legislación basada en análisis de riesgos. Creación de la EFSA para la evaluación científica de los riesgos.
- ✓ Responsabilidad de los operadores económicos de poner en el mercado alimentos seguros y de las autoridades en crear sistemas de control adecuados.
- ✓ Trazabilidad. Garantizar el seguimiento de un producto a lo largo de la cadena alimentaria.
- ✓ Principio de cautela, establecer medidas preventivas para garantizar la protección del consumidor, ante la posible pérdida de seguridad de un producto.

Tras este reglamento se crearon una serie normas posteriores, incluidas en el denominado «Paquete de Higiene». Algunos de los reglamentos incluidos en el denominado paquete de higiene son:

- Reglamento (CE) nº 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004.
- Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004.
- Reglamento (CE) nº 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004.

Además de estas normas existen numerosos reglamentos en el ámbito alimentario algunos de carácter general y otros más específicos por sectores que se han ido creando para facilitar el cumplimiento de los objetivos anteriormente descritos.

Los programas de control de *Salmonella spp.* y *Campylobacter spp.* en mataderos y salas de despiece tienen como objetivo principal la eliminación o reducción a un nivel aceptable la contaminación bacteriana y así poder minimizar el riesgo en la cadena alimentaria. Para poder verificar la eficacia de las medidas implementadas (basadas como veremos más adelante en un sistema de autocontrol **APPCC**) y conseguir cumplir con los objetivos marcados las empresas tienen que realizar una serie de analíticas cuya referencia legal aplicable es el Reglamento (CE) nº 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios y sus posteriores modificaciones.

En el caso de la carne de porcino, se toman muestras en las canales en mataderos y posteriormente, a lo largo de la cadena alimentaria, desde la carne fresca hasta los productos elaborados. También se tienen que tomar muestras de las superficies de trabajo, para garantizar que la limpieza y desinfección de las instalaciones, equipos y útiles es correcta (ver Anexo 9). Respecto a *Salmonella spp.* se han publicado posteriormente los siguientes reglamentos: Reglamento (CE) nº 217/2014 y Reglamento (CE) nº 218/2014.

El muestreo de *Campylobacter spp.*, no está contemplado en el Reglamento (CE) nº 2073/2005 para canales de porcino. No obstante, las empresas también dentro de sus sistemas de autocontrol pueden realizar las analíticas que consideren necesarias sobre posibles patógenos que pueden afectar a la seguridad de sus productos, aunque no exista una norma legal que les obligue a ello.

4.2. CONTROL DE *Salmonella spp.* y *Campylobacter spp.* EN LA LÍNEA DE SACRIFICIO DE PORCINO (APPCC EN MATADEROS DE PORCINO).

El Reglamento (CE) nº 178/2002 atribuye al explotador de la empresa alimentaria la responsabilidad legal de garantizar alimentos seguros. En el artículo 5 del Reglamento (CE) nº 852/2004, se indica la obligación de implantar, sistemas de autocontrol basados en el Sistema de Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos (**APPCC**).

El conocimiento de estos sistemas de autocontrol resulta imprescindible para poder identificar los peligros que pueden contaminar los productos y determinar los posibles puntos críticos donde se tendrían que instaurar puntos de control, además nos permite comprobar si las medidas tomadas por las empresas son suficientes para garantizar la eliminación de estos posibles peligros o al menos llevarlos hasta un nivel aceptable de riesgo. Para poder identificar los riesgos y determinar los posibles puntos críticos en la línea de sacrificio de porcino, que es uno de los objetivos en este estudio es necesario, conocer cómo se documenta un sistema de autocontrol.

El sistema **APPCC** permite identificar, evaluar y controlar los peligros significativos para así poder garantizar la inocuidad de los alimentos.

El *Codex Alimentarius* (OMS y FAO, 2009) estructura el sistema **APPCC** en siete principios que son:

- » Principio 1: Hacer un análisis de peligros.
- » Principio 2: Determinar los puntos de control crítico (**PCC**).
- » Principio 3: Establecer un límite o límites críticos.
- » Principio 4: Establecer un sistema de vigilancia del control de los **PCC**.
- » Principio.5: Establecer las medidas correctoras que se deben adoptar cuando la vigilancia indica que un determinado **PCC** no está controlado.
- » Principio 6: Establecer procedimientos de comprobación para confirmar que el sistema de **APPCC** funciona eficazmente.
- » Principio 7: Establecer un sistema de documentación sobre todos los procedimientos y los registros apropiados para estos principios y su aplicación.

En general la estructura de los sistemas de autocontrol, basados en el **APPCC**, se divide en dos partes:

- 1- Requisitos Previos de Higiene y Trazabilidad (**RPHT**), previos a la implantación del **APPCC** y que sirven para controlar los peligros generales.
- 2- Implantación del Sistema **APPCC** para el control de los peligros específicos, con el *Codex Alimentarius* como referencia de trabajo y el Reglamento (CE) nº 852/2004 como referencia normativa (OMS y FAO, 2009).

1- Los **RPHT** se desarrollan por medio de la elaboración e implantación de planes de control. Estos planes (sin menoscabo de cualquier otro que las empresas consideren oportuno) son:

- Plan de Control de la Calidad del Agua.
- Plan de Limpieza y Desinfección.
- Plan de Formación de los Manipuladores.
- Plan de Mantenimiento de las Instalaciones y Equipos.
- Plan de Control de Plagas.
- Plan de Gestión de Residuos.
- Plan de Trazabilidad.
- Plan de Control de Proveedores.
- Plan de Mantenimiento de la Cadena de Frio.

2- La elaboración de un plan **APPCC** se estructura de la siguiente forma:

2.1 Etapas Previas

2.1.1 Ámbito de Aplicación.

Describe los productos que elabora la empresa, así como sus procesos, y debe de considerar todas las categorías generales de peligros: Físicos, Químicos y Microbiológicos.

2.1.2 Determinación completa y uso de los productos.

Productos que elabora la empresa con sus características (características físico-químicas, conservación, vida útil, aditivos, etiquetado, envasado etc.)

2.1.3 Diagrama de Flujo y descripción de las etapas.

Tiene que incluir todas las etapas del proceso.

2.2 Principios del Sistema

2.2.1 Análisis de Peligros:

Tiene como objetivo identificar todos los peligros significativos en cada etapa. La definición de peligro significativo, es *«aquel que probablemente se presente y que causará un efecto perjudicial para la salud»*.

En una primera fase hay que determinar todos los posibles peligros biológicos, químicos y físicos de cada una de las etapas del proceso de elaboración.

Una vez hemos determinados todos los posibles peligros, se tienen que identificar aquellos que se consideran significativos, y que han sido clasificados como tales en base al criterio de gravedad y probabilidad que ocurran. En las tablas 26 y 27 (ver Anexo 10) se indica como efectuar este análisis para determinar los peligros significativos (Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria (ACSA), 2005).

2.2.2 Determinar los Puntos de Control Críticos (PCC).

La definición del Codex del PCC es «Fase en la que puede aplicarse un control y que es esencial para prevenir o eliminar un peligro relacionado con la inocuidad de los alimentos o para reducirlo a un nivel aceptable». Para poder determinar de forma correcta si tenemos un PCC o no, se aplica el llamado «árbol de decisiones», que consiste en una secuencia lógica de preguntas y respuestas que permiten tomar una decisión objetiva sobre una cuestión determinada (ver Anexo 11).

Una vez que se han determinado cuales son los puntos críticos que tenemos que controlar, se pasa a las fases siguientes.

2.2.3 Establecer los Límites Críticos para cada PCC.

El límite crítico se define como: «un punto a partir del cual el producto se considera aceptable o no aceptable».

2.2.4 Establecer un sistema de vigilancia.

Consiste en determinar las responsabilidades de vigilancia de estos puntos críticos: *Quien* la va a realizar, *Como* la va a realizar y *Cuando* la va a realizar (frecuencia).

2.2.5 Establecer medidas correctivas.

Si durante el proceso de vigilancia se comprueba que se han incumplido los límites críticos, se tienen que establecer medidas correctivas que garanticen la seguridad del producto. Estas medidas correctivas se tienen que aplicar sobre el producto y sobre el proceso.

2.2.6 Establecer procedimientos de comprobación.

Esto significa que se tiene que verificar que el sistema implantado funciona correctamente. La verificación se puede realizar por medio de analíticas, verificación documental, etc.

2.2.7 Documentar el sistema y registrar.

Todo lo anteriormente expuesto, incluidos los planes de los RPHT, tienen que estar correctamente documentados.

APPCC EN UN MATADERO DE PORCINO.

La aplicación de un sistema APPCC en un matadero es necesario para determinar los puntos críticos durante la línea de sacrificio, de este modo se pueden identificar claramente los puntos en los que se tienen que tomar medidas para minimizar el riesgo de la aparición de los peligros. Para poder comenzar el análisis, lo primero que hay que hacer es un diagrama de flujo de un matadero de porcino y una correcta descripción de las etapas (Gráfico 10).

DIAGRAMA DE FLUJO

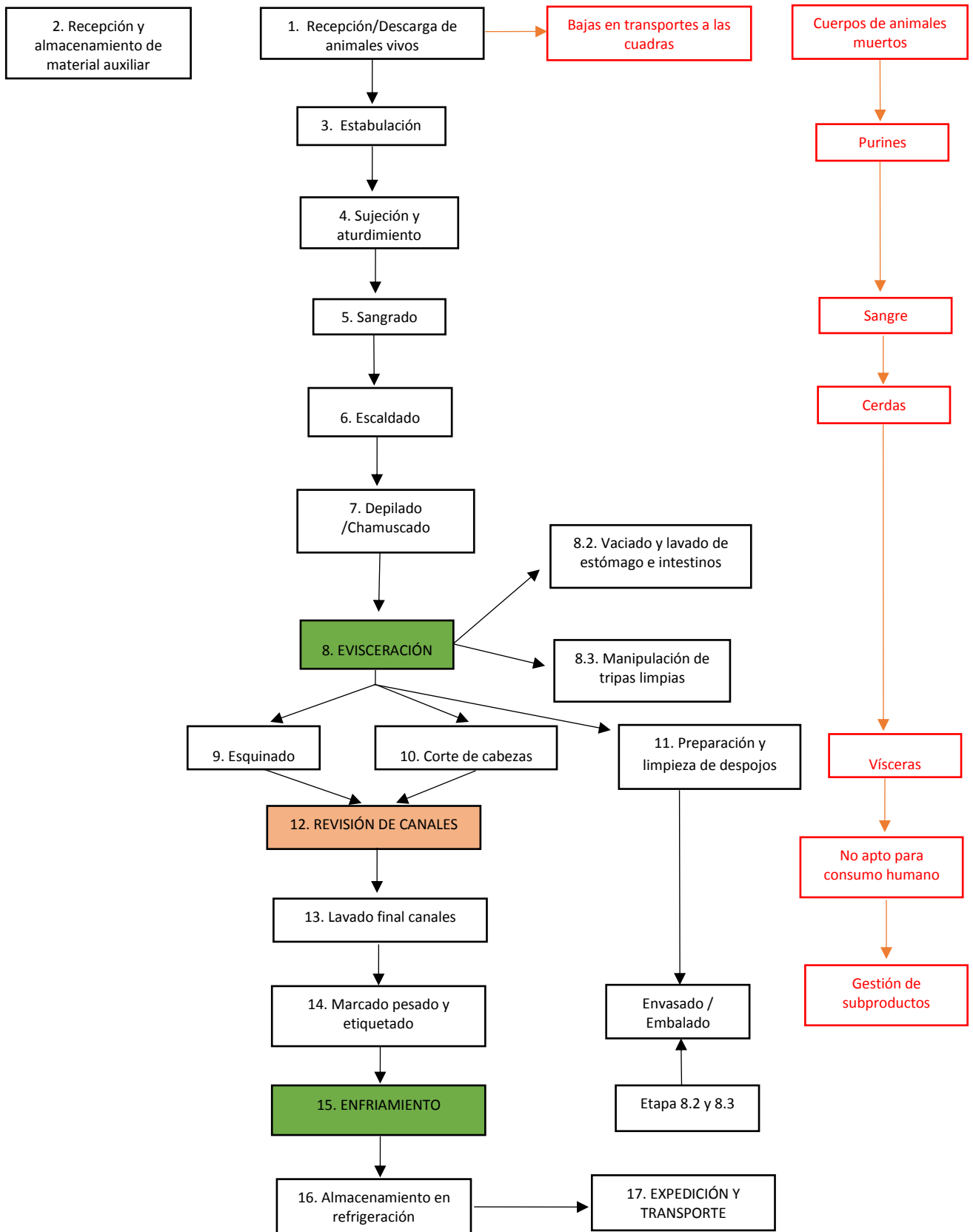


Gráfico 10: Diagrama de flujo del proceso de sacrificio porcino. Fuente: elaboración propia basada en FEDACOVA, 2011.

Descripción de las etapas de matadero de porcino.

Según la *Guía de Prácticas Correctas de Higiene del Sector de Mataderos de Ungulados Domésticos y Ratites de la Comunidad Valenciana*, (FEDACOVA, 2011) en los mataderos de porcino se pueden identificar 15 etapas:

ETAPA 1. Recepción y descarga de los animales.

En esta etapa se procede a la descarga de los animales y se tiene que cumplir la normativa de bienestar animal.

ETAPA 2. Recepción y almacenamiento del material auxiliar.

ETAPA 3. Estabulación.

Periodo que permanecen los animales en los corrales, previo al sacrificio. Los corrales de espera deben de tener condiciones estructurales e higiénicas adecuadas, disponer de agua potable y disponibilidad de alimento si permanecen más de 12 horas.

Se tienen que evitar hacinamientos y controlar el tiempo de permanencia en los mismos.

ETAPA 4. Sujeción y Aturdimiento.

Durante esta etapa se tiene que garantizar el estado de inconsciencia inmediato, para evitar sufrimientos innecesarios previos a la muerte del animal.

ETAPA 5. Sangrado.

Consiste en el sangrado de los animales mediante la incisión de la arteria carótida de forma que se produzca un sangrado rápido y completo. En esta etapa se tiene que garantizar la recogida higiénica de la sangre.

ETAPA 6. Escaldado.

Baño de agua caliente (escaldado) para facilitar el depilado. En esta etapa pueden observar distintas formas de escaldado dependiendo de cada matadero (inmersión o vapor).

ETAPA 7. Depilado/Chamuscado/Flagelado/Lavado.

Consiste en la retirada de pelos y uñas. Existen bastantes diferencias dependiendo del tamaño de los mataderos.

ETAPA 8. Evisceración.

Extracción de las vísceras de cavidad abdominal, torácica y pélvica, así como tráquea y esófago. La extracción del tracto intestinal tiene que evitar que se produzca derrame de sus contenidos, para lo que se emplean distintos sistemas: ligaduras, tapones, etc.

ETAPA 9. Esquinado/Corte de cabezas/Despojos.

El esquinado consiste en la división de la canal en dos mitades, bien por medio de sierra mecánica dividiendo en dos la columna vertebral o bien de forma manual con extracción de la columna, en esta etapa se suele realizar el corte de cabezas o no.

Por lo que respecta a los despojos si estos no se desechan tanto las vísceras blancas (intestinos, estómagos) como las vísceras rojas (hígados, pulmones) son tratados en sitios aparte de la línea de las canales. En mataderos grandes disponen de instalaciones específicas para los despojos.

ETAPA 10. Revisión de canales.

En esta etapa los Inspectores veterinarios proceden a la inspección de las canales y dictaminan sobre su aptitud.

ETAPA 11. Lavado de Canales.

Lavado al final de la cadena de sacrificio

ETAPA 12. Marcado/Pesado/Etiquetado.

En esta etapa el operario procede al marcado sanitario sobre la superficie de la canal, pesado y etiquetado.

ETAPA 13. Enfriamiento.

Se trata de un proceso validado que garantice una temperatura de la canal de 7°C.

ETAPA14. Almacenamiento en Refrigeración.

Almacenamiento de las canales en cámaras frigoríficas.

ETAPA15. Expedición y transporte.

Identificación de los Peligros y Medidas de Control.

Los principales peligros susceptibles de aparecer en las canales y despojos de porcino son (ver tabla 28 del Anexo 12):

1-Biológicos: presencia de microorganismos patógenos o parásitos que pueden estar en los animales vivos en origen o bien incorporarse durante el proceso, por prácticas incorrectas de manipulación, condiciones higiénicas deficientes de las instalaciones y los útiles etc. Es en este grupo donde se engloban los microorganismos patógenos (*Salmonella spp.* y *Campylobacter spp.*) que son objeto del estudio. El correcto conocimiento de los mismos, así como su ubicación (tracto gastrointestinal de los animales y del hombre), temperatura de crecimiento, resistencia a desinfectante etc., son fundamentales para así poder determinar las actuaciones que se tienen que realizar para impedir su presencia, para eliminarlos o reducirlos a un nivel aceptable.

2-Físicos: presencia de **restos** de agujas de inyección, crotales, trozos de sierra de corte, restos metálicos de útiles de corte etc.

3-Químicos: presencia de residuos de medicamentos, dioxinas, restos de productos de limpieza y desinfección, contaminaciones por el agua utilizada etc. (FEDACOVA, 2011; INNOVACC, 2013).

Determinación de los PCC.

Como hemos indicado anteriormente una vez identificados los peligros en cada etapa, y tras haber establecido las medidas de control para cada peligro, se aplica el criterio de gravedad/probabilidad, con esta información se deciden cuáles son los peligros significativos que deben de pasar al árbol de decisiones donde determinaremos los posibles **PCC**.

En la mayoría de las ocasiones una correcta aplicación de los **RPHT** es suficiente para la eliminación o disminución de los peligros hasta niveles aceptables, si esto no fuera así el árbol de decisiones determinará finalmente cuales son los puntos de control crítico.

En la línea de sacrificio de porcino, de la *Guía de prácticas Correctas de Higiene del Sector de Mataderos de Ungulados Domésticos y Ratites* (Fedacova, 2011) se determinaron los siguientes **PCCs**:

PCC1: Etapa de Eviscerado.

Peligro: Contaminación de la canal y de las vísceras por material fecal proveniente del tracto digestivo, durante el proceso de eviscerado.

Medida de control: Prácticas correctas de eviscerado que incluyan un procedimiento de ligado o similar del recto.

Limite crítico: Contaminación fecal visible.

Vigilancia: Control visual de las canales, durante el proceso anterior a su paso a cámara y el responsable del proceso. Si el operario realiza una manipulación incorrecta debe comunicarlo.

Acción correctiva: Identificación de la canal, dictamen del inspector veterinario, desechar la canal o una parte de ella y evaluar la causa (falta de formación, accidente).

Registro de canales no conformes.

PCC2: Etapa de Enfriamiento.

Peligro: Proliferación microbiana por enfriamiento inadecuado.

Medida de control: Proceso de enfriamiento validado (Temperatura/Tiempo).

Limite crítico: Temperatura de la cámara o túnel de enfriado y tiempo en que se tarda en alcanzar la temperatura de las canales a 7°C.

Vigilancia: control de la temperatura de las cámaras o túnel de enfriado y tiempo que permanecen las canales, por medio del responsable del proceso.

Acción correctiva: Ajustar la temperatura e incrementar el tiempo, no liberar canales hasta que no hayan alcanzado los 7°C, evaluar las causas.

Registro de control de temperaturas y tiempo.

Medidas de control aplicadas por las empresas distintas de los PCC.

Las empresas junto con la vigilancia de los **PCC** pueden tener documentadas otras medidas de control como son los Requisitos de Higiene Operativos (**RHO**). Además, previamente a la implantación del **APPCC** se establecerán medidas de control derivadas de la implantación de los **RPHT**, requisito fundamental para controlar los peligros generales y garantizar que el sistema de autocontrol funcione correctamente.

Las medidas de control que se tienen que aplicar en cada plan y que garantizan la eliminación de peligros generales son:

I. Plan de Control de la Calidad del Agua. El objetivo de este Plan es evitar la contaminación directa o indirecta de los productos por el uso de agua contaminada. Si el abastecimiento de agua de los mataderos proviene de la red de abastecimiento pública, el agua se considera potable. No obstante, las empresas como medida de control tienen que llevar un registro de control del cloro libre residual con una frecuencia mínima semanal. En caso de no disponer de agua de red tienen que garantizar el cumplimiento del Real Decreto 140/2003.

II. Plan de Limpieza y Desinfección. La aplicación de este Plan tiene que asegurar que los procesos de limpieza y desinfección implantados en la empresa, son suficientes y adecuados para controlar la contaminación microbiológica, así como para evitar la posible contaminación química debida a restos de productos de limpieza y desinfección utilizados. Las empresas como medida de control, tienen que establecer un Plan de limpieza general y de procedimientos específicos de limpieza y desinfección de locales, equipos y utensilios. Además, disponer de esterilizadores para cuchillos y sierras con una temperatura ($> 82^{\circ}\text{C}$), lavamanos cercanos a los puestos de trabajo dotados de agua fría y caliente, jabón dosificador y papel de un solo uso.

También tienen que utilizar de detergentes y desinfectantes autorizados y elaborar registros de limpieza. La verificación de la eficacia de la limpieza se realizará mediante análisis de superficies.

III. Plan de Formación. Se tiene que garantizar que todos los trabajadores de la empresa disponen de formación suficiente en materia de higiene (manipuladores de alimentos), así como de formación específica según su puesto de trabajo. Para ello deben implantar un programa de formación continua y específica para los puestos de trabajo además de refrendar mediante listas de revisión que los operarios realizan correctamente su trabajo.

IV. Plan de Mantenimiento de instalaciones y Equipos. El objetivo es que todas las instalaciones y equipos estén en condiciones correctas de mantenimiento y que estos funcionen correctamente (Calibración/Verificación de los equipos de medida). Como medida de control tienen que disponer de un Plan de mantenimiento preventivo y cumplimentar listas de revisión para detectar posibles deterioros o roturas que puedan afectar a la seguridad de los productos, también se tiene que tener previsto que tipo de actuaciones de emergencia hay que realizar ante fallos importantes que puedan ocurrir, como por ejemplo corte de fluido eléctrico.

V. Plan de Control de Plagas. Su función es evitar la posible presencia de Plagas dentro de las instalaciones de la empresa, e impedir que su presencia pueda afectar a la seguridad de los productos. Para proteger los productos de la posible contaminación por la presencia de plagas deben disponer de un registro de vigilancia de plagas, y en caso de detectar plagas se establecer actuaciones de control efectuadas por empresas externas autorizadas para realizar tratamientos con biocidas.

VI. Plan de Gestión de Residuos. Consiste en garantizar que los residuos generados no constituyan una fuente de contaminación directa o indirecta para los productos, y en el caso de que se trate de subproductos de origen animal no destinados a consumo humano (SANDACH), sean gestionados de manera correcta, de conformidad con el Reglamento (CE) n° 1069/2009. La medida de control está basada fundamentalmente en eliminar la posible contaminación cruzada de los productos, retirando los residuos que se generan en todos los procesos con la mayor celeridad posible de la zona de producción. Las empresas tienen que disponer de registros para comprobar que se está cumpliendo el plan.

VII. Plan de Trazabilidad. Se tiene que establecer un procedimiento que asegure el cumplimiento del Reglamento (CE) n° 178/2002, que acredite la trazabilidad del producto y de este modo poder evitar que llegue al consumidor un producto no conforme o sospechoso de serlo. Es necesaria la presencia de documentación que confirme la trazabilidad del producto: guías de entrada de animales, parte diario de sacrificio, identificación de lotes, documentos de salida de producto, etc.

VIII. Plan de Control de proveedores. Basado en realizar un control de los proveedores de materias primas y de material auxiliar que permita certificar la calidad y la seguridad de los productos, y al mismo tiempo verificar que se cumple con la normativa vigente. Para ello, tienen que disponer de un registro diario de entrada de animales vivos, donde se comprueba que los animales vienen con guía, que vienen correctamente identificados, número de animales que llegan, estado sanitario, estado de limpieza, estado de bienestar, número de bajas, información sobre cadena alimentaria, la cuadra donde se ubican, condiciones de higiene del transporte, etc.

IX. Plan de control de la Cadena de Frio. El objetivo de este Plan es asegurar el mantenimiento de la cadena de frío a lo largo de todo el proceso y de este modo impedir la proliferación microbiana en aquellos alimentos que necesiten de temperatura regulada para su conservación. Para ello deben disponer de un registro de control de las temperaturas, que garantice que se cumple la normativa vigente. (OMS y FAO, 2009; FEDACOVA, 2011).

Aunque todos los planes mencionados anteriormente, se consideran imprescindibles para controlar el Peligro de presencia de *Salmonella spp.* y *Campylobacter spp.* en las canales, hay que destacar especialmente tres planes que tienen la incidencia más directa en la posible contaminación del producto final.

En primer lugar, el **Plan de Control de Proveedores**, en este plan hay que tener en cuenta que una homologación de proveedores que permita abastecerse de animales que provengan de granjas exentas de enfermedades, con sistemas de autocontrol y con medidas de bioseguridad correctas, disminuiría notablemente la presencia de contaminación posterior de las canales. En este punto incluiríamos un transporte adecuado que no mezclara lotes de distintas procedencias y que contaran con una limpieza y desinfección eficaz entre cargas de animales.

En segundo lugar, el **Plan de Limpieza y Desinfección**, este plan se considera imprescindible ya que una de las principales causas de la presencia de patógenos en las canales suele ser la contaminación cruzada. Por lo tanto, la eficacia de este plan con las frecuencias correctas y el uso de desinfectantes adecuados en cada proceso de la cadena se considera fundamental.

Por último y no por ello menos importante la **Formación de los Manipuladores**, del correcto desempeño de su trabajo durante todo el proceso sobre todo en los puntos críticos depende todo el sistema de autocontrol.

Verificación del sistema APPCC en mataderos de porcino.

Como ya se ha descrito anteriormente las empresas tienen que verificar que su sistema **APPCC** está correctamente implantado y que funciona adecuadamente. En los mataderos de porcino se realizan dos tipos de verificaciones: por una parte, la verificación documental y, por otra parte, las analíticas.

La verificación documental consiste en la comprobación periódica por alguien distinto del que realiza la vigilancia en todos los registros anteriormente mencionados, de que se están realizando los controles y si la información reflejada en los mismos es correcta y se corresponde con la realidad.

La verificación analítica tiene que demostrar que el producto final es seguro y que las acciones realizadas para conseguirlo son las adecuadas y suficientes. Según la Guía de Prácticas correctas de higiene del sector de mataderos de ungulados domésticos y ratites (FEDACOVA, 2011) la empresa tiene que realizar como mínimo:

Análisis de Superficies para garantizar que los procedimientos de limpieza y desinfección funcionan correctamente y son capaces de eliminar la contaminación de las instalaciones y equipos. Con una frecuencia mínima semestral (cada industria tiene instaurada su frecuencia) y con la toma de muestras en seis superficies que contacten con producto, dos de aerobios, dos de enterobacterias y dos de gérmenes indicadores psicrófilos como por ejemplo *Listeria* spp.

Algunas empresas además de estos microorganismos también vigilan otros como la *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria*, *Yersinia*, etc.

Análisis de Producto: Análisis Microbiológico de Canales Porcinas, en cumplimiento de la normativa vigente, Criterios de Higiene de los Procesos en el Anexo IV del Reglamento (CE) n°2073/2005 y Reglamento (UE) n° 217/2014 de la Comisión.

La frecuencia es variable en los distintos mataderos, pero como mínimo mensual.

A la hora de evaluar si un sistema de autocontrol funciona correctamente, hay que tener en cuenta además de la documentación aportada, si este se encuentra realmente implantado, es decir si realmente se consiguen los objetivos y el personal responsable conoce y cumple correctamente su función.

En los últimos años, sobre todo en las empresas más grandes, se han introducido los análisis de tendencias, de este modo se puede controlar de una forma más eficiente el comportamiento de los peligros microbiológicos dentro del su sistema de autocontrol.

5. OBJETIVOS.

5. OBJETIVOS.

El **objetivo general** de este estudio es determinar la prevalencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. a lo largo de la cadena de sacrificio de porcino en mataderos de la CV y comprobar el riesgo real que suponen los mataderos de porcino, identificando las etapas más conflictivas en la contaminación potencial de las canales porcinas con estos patógenos.

Para la consecución de este objetivo general, se han establecido los siguientes **objetivos específicos**:

- Desarrollar una encuesta que recoja todas las cuestiones relacionadas con la infraestructura e higiene del matadero, el manejo de los animales desde su llegada a matadero, el faenado de las canales y su procesado. La encuesta estará dirigida a conocer las características más importantes de los mataderos estudiados, así como para detectar los riesgos potenciales de contaminación de las canales por las dos bacterias.
- Determinar la presencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. de los animales que entran en la cadena de sacrificio.
- Toma de muestras en las diferentes fases de las operaciones que tienen lugar en mataderos de porcino situados en la Comunidad Valenciana, con el fin de determinar la situación real de la presencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp., y la influencia de los distintos procesos en la contaminación final de las canales por *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp.

6. MATERIAL Y MÉTODOS.

6. MATERIAL Y METODOS.

6.1. RECOGIDA DE DATOS DESCRIPTIVOS A TRAVÉS DE UNA ENCUESTA Y DETERMINACIÓN DE LA POSITIVIDAD DE *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. EN MATADEROS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA.

6.1.1. Selección de los mataderos.

Durante el periodo comprendido entre los años 2014 y 2015 se llevó a cabo un estudio de la epidemiología de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en los mataderos de porcino de la Comunidad Valenciana. Según el Registro General Sanitario de Empresas Alimentarias y Alimentos (RGSEAA), existen actualmente 21 mataderos autorizados para el sacrificio de porcino en la CV. En cuanto a los datos disponibles sobre el número total de cerdos sacrificados, la encuesta anual de sacrificio de ganado en mataderos en 2014 del MAGRAMA, indica que el número total de cerdos sacrificados en la CV en 2014 fue de 1.266.324 animales, de los cuales 1.120.278 fueron sacrificados en la provincia de Valencia (MAGRAMA, 2015) (Tabla 17).

Tabla 17: Encuesta anual de sacrificio de ganado en mataderos 2014. Desagregación provincial del censo de cabezas sacrificadas por especies. Fuente: elaboración propia basada en MAGRAMA, 2015).

ENCUESTA ANUAL DE SACRIFICIO DE GANADO EN MATADEROS 2014								
DESAGREGACION PROVINCIAL DEL CENSO DE CABEZAS SACRIFICADAS, POR ESPECIES								
PROVINCIAS Y CC.AA.	BOVINO	OVINO	CAPRINO	PORCINO	EQUINO	AVES (en miles)	CONEJOS (en miles)	TOTAL
ALICANTE	9.931	290.632	12.320	49.008	256	15.243	136	15.741.680
CASTELLÓN	4.508	201.837	11.581	97.038	3.350	18.737	1.500	20.555.724
VALENCIA	138.997	167.724	3.518	1.120.278	3.980	63.083	664	65.181.957
C. VALENCIANA	153.436	660.193	27.419	1.266.324	7.586	97.064	2.300	101.479.361

Para realizar la selección de los mataderos, nos pusimos en contacto con los mataderos de porcino de la CV, con el fin de informarles acerca de las características del estudio, y solicitar su colaboración. De entre todos los mataderos informados, ocho se prestaron a colaborar en el estudio.

6.1.2. Elaboración de encuestas.

En cada uno de los mataderos muestreados, se planificó realizar una encuesta con objeto de obtener información sobre los peligros microbiológicos, que pudieran afectar a la posible contaminación de las canales a lo largo de la cadena de sacrificio.

Para la elaboración de la encuesta se consideró la información de estudios previos acerca de la influencia del matadero en la contaminación posterior de la canal (Wheatley *et al.*, 2014; Argüello *et al.*, 2013b, 2013c; Swanenburg *et al.*, 2001a, 2001b, 2001c; Hurd *et al.*, 2005; Hald *et al.*, 2003; Malakauskas *et al.*, 2006; Maramski, 2012; Pearce *et al.*, 2003, 2004; Steinhauserova *et al.*, 2005) y se tuvieron en cuenta los sistemas de autocontrol basados en el **APPCC** aplicados a los mataderos de porcino. Una vez concretados todos aquellos puntos que se consideraron relevantes y que podrían aportar información al estudio, se diseñó una encuesta epidemiológica que posteriormente sería utilizada en las visitas a los mataderos donde se tomaron las muestras.

En primer lugar, se elaboró un borrador de la encuesta que fue sometido a examen en 4 mataderos diferentes, con objeto de comprobar si las preguntas eran fácilmente comprensibles y si estas aportaban la información deseada. Tras esta prueba, se eliminaron algunas preguntas que como se pudo ver *in situ* no podían ser contestadas de forma adecuada por los operarios del matadero como por ejemplo aquellas relacionadas con el transporte, por otro lado, se incluyeron otras que se consideró que podrían aportar datos importantes al estudio.

Finalmente, tras superar esta fase, se dio por terminada la elaboración de la encuesta y la información que se tenía que recoger a través de la misma.

La encuesta (disponible en Anexo 13) se dividió en bloques y se diseñó de forma que aportara información homogénea y objetiva de todos los mataderos del estudio, sobre todo teniendo en cuenta las grandes diferencias existentes entre ellos, tanto a nivel estructural, como a nivel del volumen de sacrificio y así permitir cuantificar y comparar los datos obtenidos. Se consideró importante que para proporcionar objetividad en la valoración de los criterios de higiene y mantenimiento la encuesta la realizara siempre la misma persona. Los distintos bloques que constituyen la encuesta epidemiológica recopilaron información relacionada con:

- Características Generales del matadero: Ubicación, número de animales sacrificados por hora, sacrificio por especies, etc.
- Diseño e Higiene de las instalaciones.
- Diseño e Higiene de los equipos.
- Origen de los animales muestreados.
- Información sobre el sistema de **APPCC** de la empresa: vigilancia de **PCC**, analíticas realizadas y sus resultados, manipuladores (formación y aplicación de la misma), etc.
- Observaciones: Se habilitó un espacio para anotar comentarios de interés respecto al día de la toma de la muestra.

En cada visita se cumplimentó una encuesta (n=21), de esta manera cuando se regresaba de nuevo al mismo matadero se podían incluir modificaciones estructurales o de producción que se hubiesen llevado a cabo desde la última visita.

6.1.3. Obtención de las muestras en matadero.

Para determinar los puntos donde se tenían que tomar las muestras, se tuvieron en cuenta estudios realizados anteriormente (reflejados en la elaboración de las encuestas), los sistemas de autocontrol basados en el **APPCC** donde se describía el peligro microbiológico por presencia, contaminación o proliferación de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en las distintas etapas del proceso de sacrificio en mataderos de porcino, y se consultó el documento con las *Instrucciones para el Control Oficial de Verificación del Plan de Muestreo de Canales en Mataderos de Andalucía* (Junta de Andalucía, 2012).

En el Gráfico 11 se indican donde se tomaron las muestras en cada etapa de sacrificio (lugar y tipo de muestra).

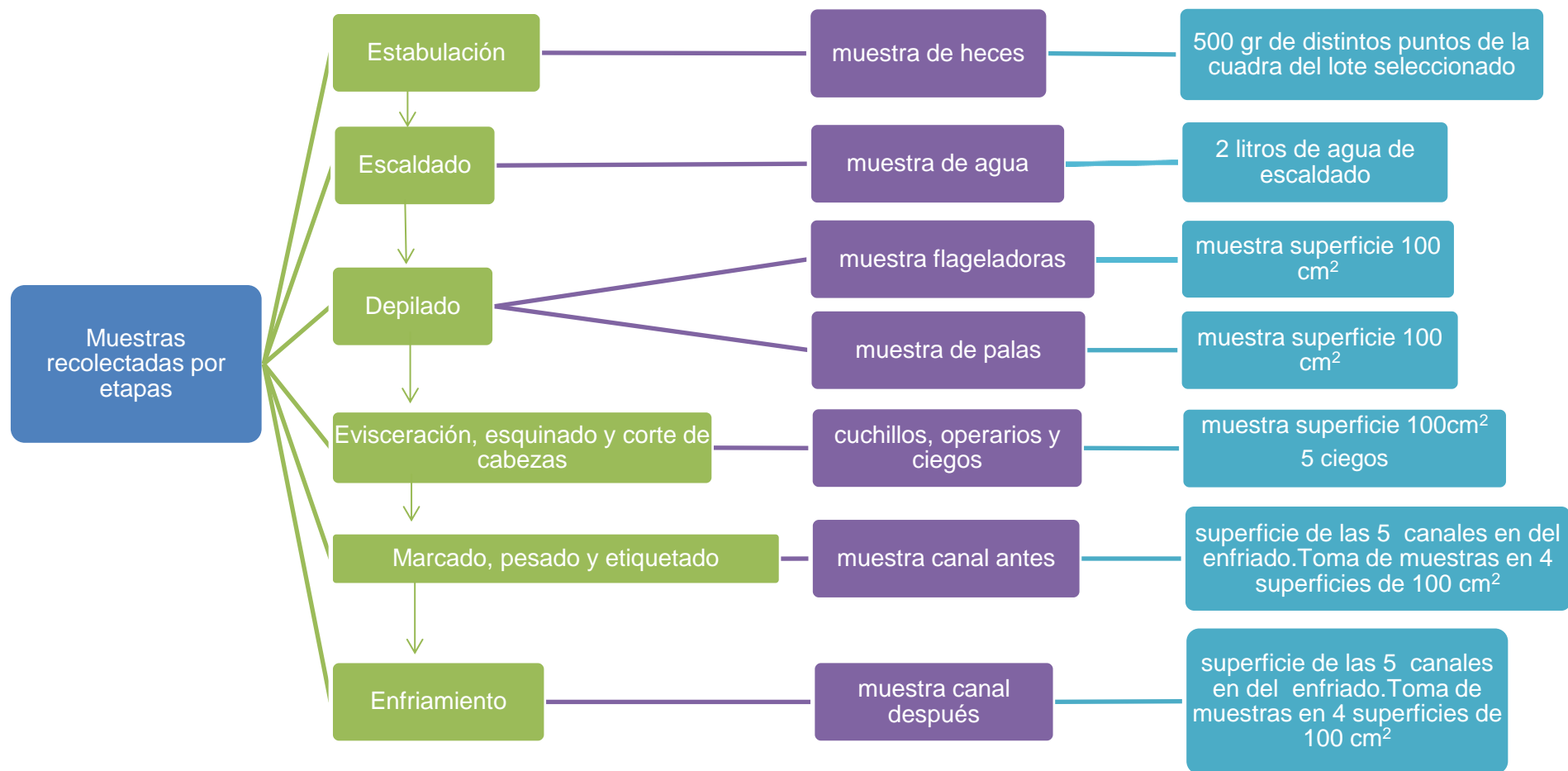


Gráfico 11: Esquema de las muestras tomadas en cada etapa del matadero de porcino. Fuente: elaboración propia.

En cada sesión de muestreo se recogieron muestras de un único lote de cerdos para el estudio de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. En primer lugar, se tomaron 500 g de heces en distintos puntos del corral de espera donde descansaba el lote objeto de estudio. A continuación, se seleccionaron y marcaron de forma aleatoria 5 animales para posibilitar su seguimiento a lo largo de la cadena de procesado. Coincidiendo con la etapa de evisceración se recogieron en condiciones de asepsia 5 ciegos, pertenecientes a los individuos previamente identificados. Posteriormente, y antes de pasar a la etapa de enfriamiento, se obtuvieron muestras de la superficie de la cara externa de las canales. Para ello se emplearon dos paños estériles (AES Laboratoire, France), para *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. respectivamente, que se utilizaron en cuatro localizaciones distintas en base a la norma ISO 17604/2013, delimitando las zonas con una plantilla de 100 cm², en el costado derecho de cada canal marcada como se puede ver en la Ilustración 4. Siguiendo la cadena de sacrificio se procedió a la obtención de las muestras de superficie de las canales tras la refrigeración, mediante el mismo procedimiento descrito con anterioridad, pero en este caso se muestreó el costado izquierdo de la canal de cada individuo.

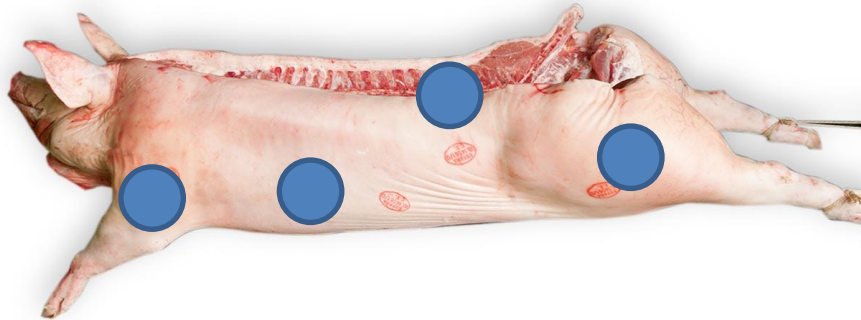


Ilustración 4: Puntos de toma (círculos azules) de muestra en canal. Fuente: elaboración propia basada en Allbiz, 2016.

De forma paralela, para evaluar la presencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en los diferentes utensilios empleados en el faenado de las canales (cuchillos, flageladora, mandil y guantes de trabajo), se tomaron muestras de una superficie aproximada de 100 cm² de cada punto utilizando dos hisopos estériles (*Cary Blair sterile transport swabs*, DELTALAB®). Por último, se recogieron 2 litros de agua del baño de escaldado. Todas las muestras recogidas se transportaron al laboratorio en condiciones de refrigeración para su análisis dentro de las 24h siguientes a su recogida. En el Grafico 12, se muestra un diagrama de flujo de un matadero tipo de porcino con los puntos donde se tomaron las muestras.

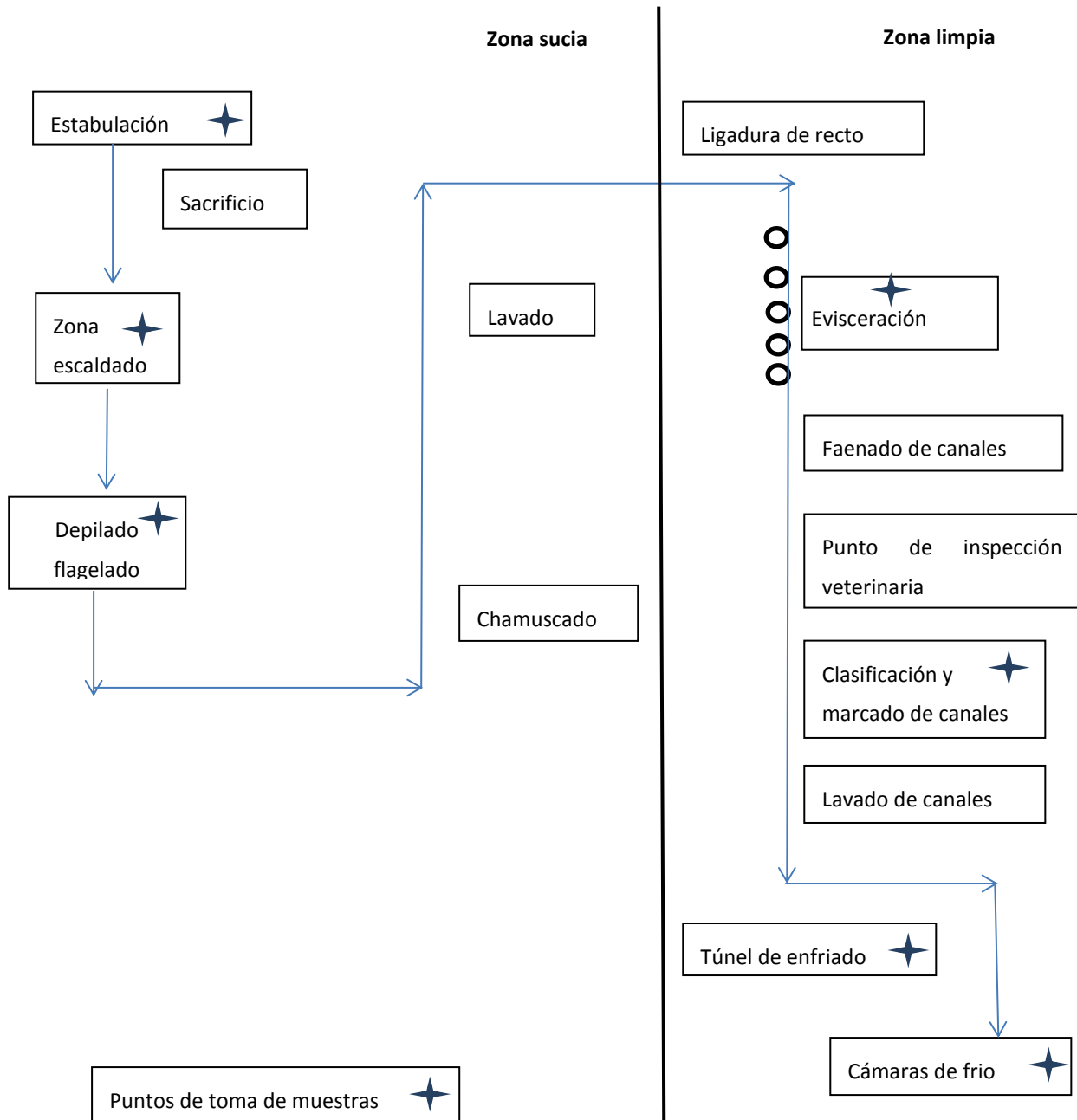


Gráfico 12: Esquema de un matadero estándar de sacrificio y procesamiento de canales de porcino. Fuente: elaboración propia basado en figura 1 de Botteldoorn *et al.*, 2003.

6.1.4. Procesado de las muestras.

Una vez en el laboratorio, se homogeneizaron las heces de los corrales de espera y 25 g de las mismas se transfirieron a una duquesa estéril para su posterior pre-enriquecimiento. Por otro lado, cada uno de los ciegos se abrieron en condiciones de esterilidad, y todo su contenido se recogió, homogenizó y dividió en dos partes iguales, una para *Salmonella* spp. y otra para *Campylobacter* spp. De la misma manera, 25 g del contenido se transfirieron a una duquesa estéril para su pre-enriquecimiento. Las muestras de agua de escaldado también se homogeneizaron y se tomaron 25 mL para continuar con el análisis. Este procedimiento se realizó por duplicado para el análisis de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. El resto de muestras se analizaron en su totalidad para la determinación de cada patógeno.

6.1.5. Aislamiento de *Salmonella* spp.

El aislamiento de *Salmonella* spp. se realizó siguiendo la Norma ISO 6579:2002 (Anexo D) (Imagen 3). En primer lugar, las muestras se pre-enriquecieron en agua de peptona tamponada (dilución 1:10 vol/vol) y se incubaron a $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $18\pm 2\text{h}$. Posteriormente, se transfirieron 100 μL de la muestra pre-enriquecida a una placa de **Rappaport Vassiliadis** semisólido modificado, que se incubó a $41.5^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $24/48\pm 2\text{h}$. Todas aquellas placas en las que se observaron halos de aproximadamente 2 cm en los puntos de inoculación de la muestra se tomaron como positivas y se transfirieron a dos medios diferentes, **XLD** (Xilosa-lysina-desoxicolato, OXOID, Madrid) y **ASAP** (Chromogenic *Salmonella* spp. placa agar, AES, Madrid), y se incubaron a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24-48 horas. Tras el periodo de incubación, se seleccionaron 5 colonias sospechosas, para su posterior confirmación bioquímica con el test API-20E (Biomérieux, France).

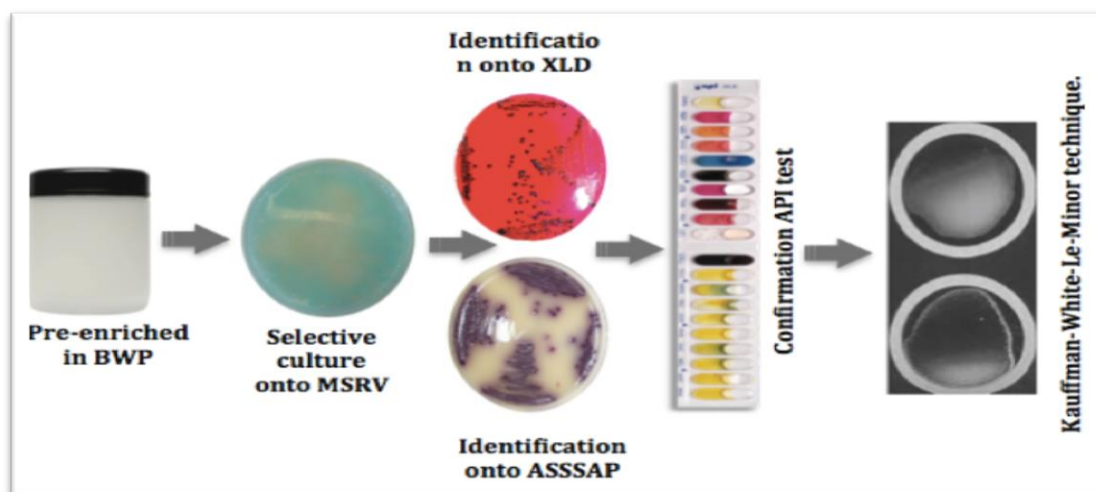


Imagen 3: Esquema de la Norma ISO 6579:2002 (Anexo D) para aislamiento de *Salmonella* spp. Fuente Norma ISO 6579:2002.

6.1.6. Aislamiento de *Campylobacter* spp.

Todas las muestras se analizaron según la Norma ISO 10272-1:2006 para el aislamiento de *Campylobacter* spp. (Imagen 4). Además, las muestras de heces y ciegos se analizaron también de forma paralela por cultivo directo. A partir de las muestras homogenizadas, se realizó una siembra directa en **agar mCCDA** (*Modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate* agar, Biolife) y **agar Preston** (AES-Biomerieux), y las placas se incubaron a 41,5°C durante 44±4h en atmósfera microaerofílica (5% O₂, 85% N₂, 10% CO₂, CampyGen, Oxoid).

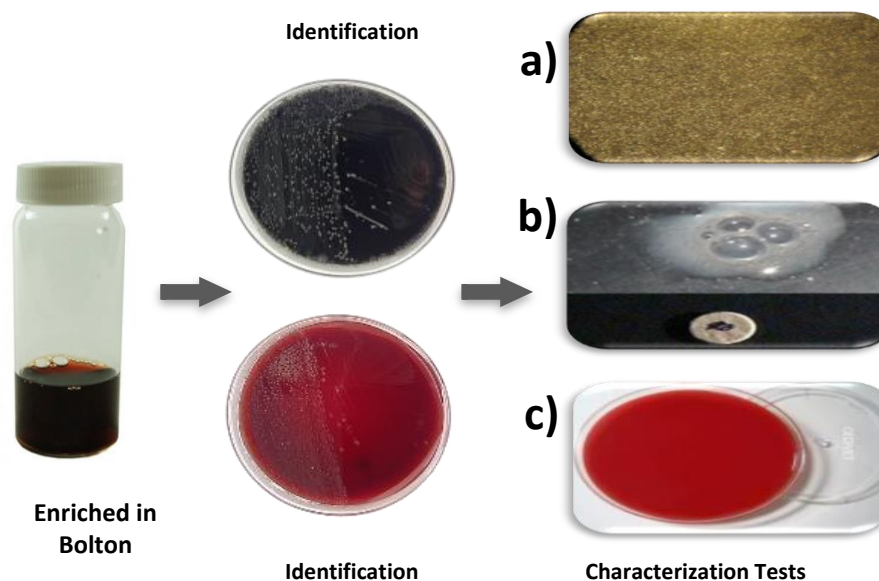


Imagen 4: ISO 10272-2:2006 (Anexo E) esquema para la detección de *Campylobacter* spp. mCCDA: *Modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate* Agar. Preston: Preston agar. a) Morfología celular y motilidad. b) Oxidasa and catalasa test. c) Siembra en diferentes temperaturas y atmósferas en Agar sangre Columbia.

En primer lugar, se realizó un pre-enriquecimiento de todas las muestras en **caldo Bolton** (OXOID, Dardilly, France) (dilución 1:10). Todas las muestras pre-enriquecidas se incubaron durante 5+/-1h a 37°C, y posteriormente, a 44h+/-4h a 41,5°C en atmósfera microaerofílica (5% O₂, 85% N₂, 10% CO₂, CampyGen, Oxoid). Tras el periodo de incubación se transfirieron 100 µL del caldo pre-enriquecido a **agar mCCDA** y **agar Preston** (AES laboratories®, BruzCedex, France), y las placas se incubaron durante 44h+/-4h a 41,5°C en atmósfera microaerofílica. Para la confirmación de *Campylobacter* spp. se realizó la prueba de movilidad con microscopio de campo oscuro, las pruebas bioquímicas de la oxidasa y catalasa; y siembras a diferentes temperaturas y atmósferas en agar Columbia sangre (AES laboratories®, BruzCedex, France). Por último, para determinar la especie de la bacteria se utilizó el test de hidrólisis del hipurato (Oxoid, Madrid). Independientemente de que fuera por pre-enriquecimiento o por cultivo directo, siempre que una de las siembras fuera positiva, la muestra se consideró positiva.

6.2. ANALISIS ESTADISTICO.

Recogida de datos descriptivos a través de una encuesta y determinación de la positividad de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en mataderos de la Comunidad Valenciana.

Para el análisis descriptivo de las encuestas se trató de recopilar las características en general de los mataderos visitados y aquellos datos que pudieran ser significativos a la hora de interpretar los resultados analíticos obtenidos. Todas las encuestas fueron realizadas el día de la toma de muestras y rellenadas por la misma persona. Previamente al estudio se realizó una depuración manual de datos, para la corrección de errores y se eliminaron variables que se consideraron que se salían de rangos lógicos, o que no aportaban ningún dato relevante en el estudio.

Por otro lado, se utilizó un Modelo Lineal Generalizado (GLM en sus siglas inglesas) con una distribución de probabilidad binomial y una *función logit* para comparar la presencia de *Salmonella* spp. o *Campylobacter* spp. en las diferentes muestras recogidas en matadero (heces, ciegos, agua de escaldado, flageladora, cuchillos, operarios, canal antes de la refrigeración y después de la refrigeración). De la misma manera, se usó el mismo procedimiento para comparar la presencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. con los diferentes mataderos y características estructurales y de manejo de la producción. Para estos análisis, el error estimado se designó como una distribución binomial y se utilizó la función del *enlace probit*. Los datos binomiales para cada muestra se asignaron, como 1 si *Salmonella* spp. o *Campylobacter* spp. estaban presentes en las muestras y como 0 si las bacterias estaban ausentes. Las diferencias significativas entre las medias se determinaron a partir de $P \text{ value} \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa SPSS *Statistics versión 21.0* (SPSS 21.0 software package; SPSS Inc., Chicago, IL, 2002).

7. RESULTADOS.

7. RESULTADOS.

7.1. CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO.

Para la realización del presente estudio se contó con un total de 21 lotes de cerdos, sacrificados en 8 mataderos diferentes de la Comunidad Valenciana. De estos, siete lotes pertenecían al matadero 3, seis al matadero 1, dos al matadero 2, dos al matadero 6, uno al matadero 4, uno al matadero 5, uno al matadero 7 y por último uno al matadero 8.

7.2. ANÁLISIS DE LAS ENCUESTAS.

Las encuestas se completaron durante el muestreo de los 21 lotes. El análisis descriptivo de los datos obtenidos se resume a continuación:

Ubicación de los mataderos:

De los 8 mataderos objeto del estudio 5 se encontraban ubicados en la provincia de Valencia, 2 en la de Castellón y 1 en la de Alicante (Gráfico 13).

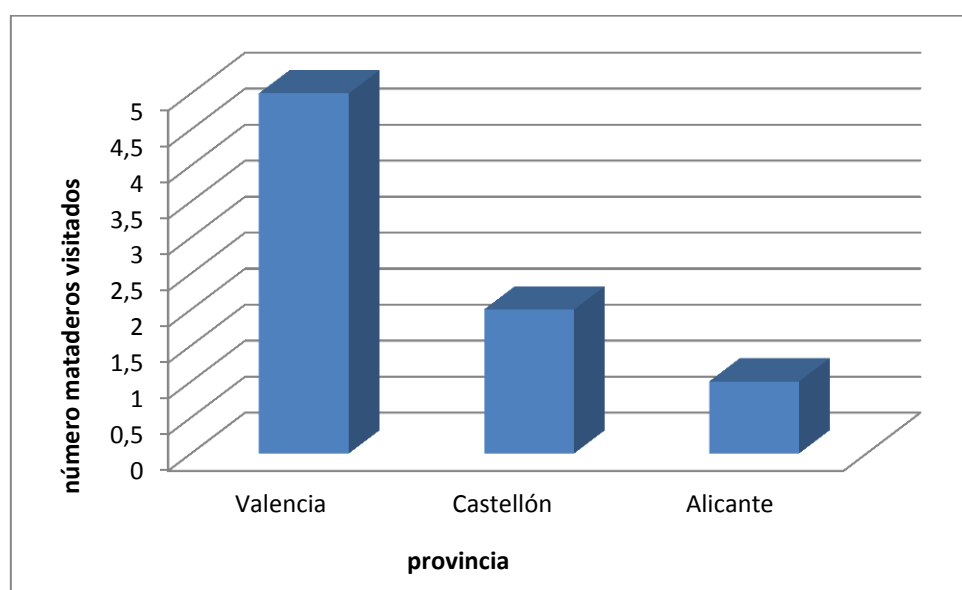


Gráfico 13: Ubicación de los mataderos.

Si atendemos al número de animales sacrificados durante el año 2014 en la Comunidad Valenciana según los datos del MAGRAMA (Gráfico 14), observamos que el 88% de los cerdos fueron sacrificados en la provincia de Valencia, el 8% en Castellón y el 4% en Alicante.

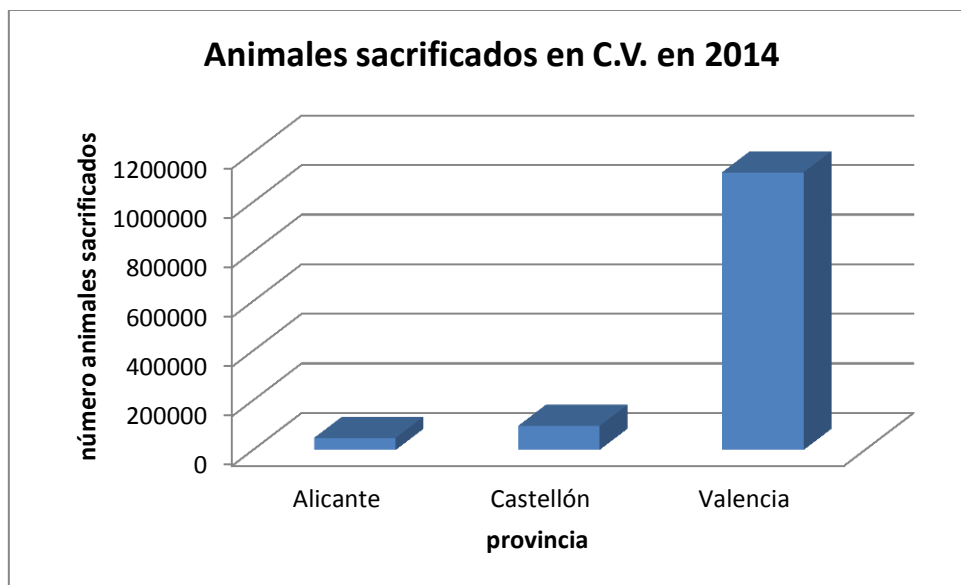


Gráfico 14: Animales sacrificados 2014 en relación a la provincia muestreada.

Por lo que respecta al número de animales sacrificados en los mataderos objeto del estudio, se puede observar la gran diferencia que existe entre ellos (Gráfico 15).

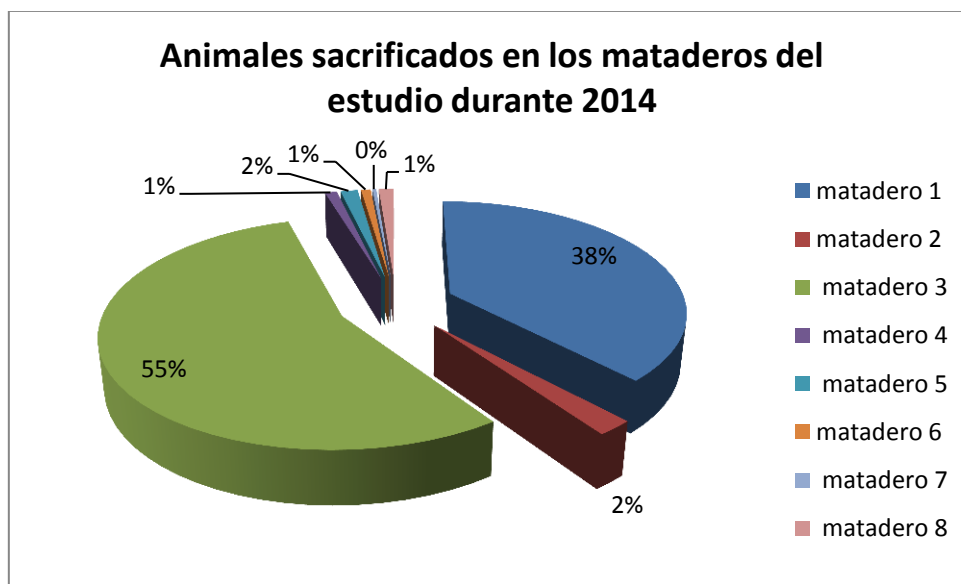


Gráfico 15: Animales sacrificados en los mataderos objeto de estudio.

En función del número de animales sacrificados (Gráfico 16), se calcularon las distintas visitas a los mataderos. El número de visitas que se efectuaron a cada matadero se refleja en la siguiente gráfica:



Gráfico 16: Visitas realizadas a mataderos en función del número de animales sacrificados.

Como se puede comprobar el mayor número de visitas se corresponde con mataderos 1, 2 y 3 ubicados en la provincia de Valencia y donde se concentra el mayor número de animales sacrificados.

Tamaño de los mataderos.

Los mataderos, se clasificaron atendiendo al número de animales sacrificados por hora distinguiendo 3 categorías (Gráfico 17): Mataderos de gran capacidad (sacrificaban más de 200 animales por hora), de mediana capacidad (sacrificaban entre 50 y 200 animales por hora) y de pequeña capacidad (sacrificaban menos de 50 animales por hora).

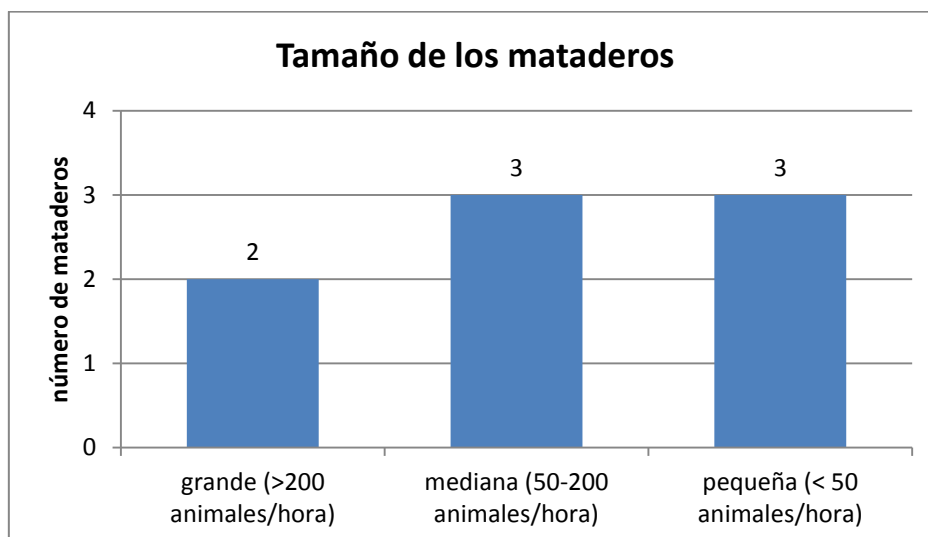


Gráfico 17: Tamaño de los mataderos.

Para la realización del estudio se obtuvieron muestras de un total de 8 mataderos, de estos dos se correspondían con mataderos de gran capacidad, tres con mataderos de mediana capacidad y tres con mataderos de pequeña capacidad. El volumen de sacrificio/hora no influyó en una mayor o menor presencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. a la entrada, durante el procesado de las canales, ni tras la refrigeración ($P > 0,05$).

Mantenimiento e Higiene de las instalaciones.

El estado de las instalaciones puede influir de forma notoria en la posible contaminación microbiana de las canales, de esta manera, superficies en malas condiciones, con roturas y rugosas, así como la presencia de óxido dificultan una adecuada limpieza y desinfección y facilitan la formación de *biofilms*, incrementando la carga bacteriana ambiental. Si analizamos el estado de mantenimiento e higiene en global de las instalaciones de todos los mataderos visitados, se observa que tan sólo un 25% de las instalaciones se encontraba en muy buen estado, un 12% se encontraba en un estado correcto y un 63% se presentaba en un estado regular, incluyendo en este apartado deficiencias estructurales. Sin embargo, en este estudio, el estado de las instalaciones (que en ningún caso fueron malas), no influyó en la contaminación final de la canal por *Salmonella* spp. o *Campylobacter* spp. ($P > 0,05$) (Gráfico 18).

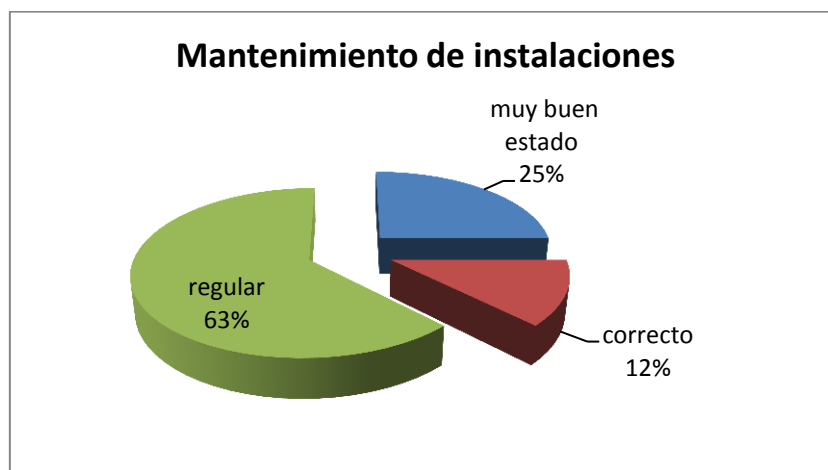


Gráfico 18: Mantenimiento de las instalaciones.

Por lo que respecta al estado de higiene de las instalaciones (Gráfico 19), estos resultados varían con respecto a los de mantenimiento, y así identificamos que un 37% de las instalaciones se encontraban en buen estado higiénico, un 25% correcto y un 38% regular. Dentro del apartado de regular hay que destacar que se encontraron zonas con deficiencias de higiene, pero al realizar una valoración global de todas las instalaciones la clasificación total se queda como regular.

Sin embargo, en este estudio, la higiene de las instalaciones (que en ningún caso fueron malas), no influyó en la contaminación final de la canal por *Salmonella* spp. o *Campylobacter* spp. ($P > 0,05$).

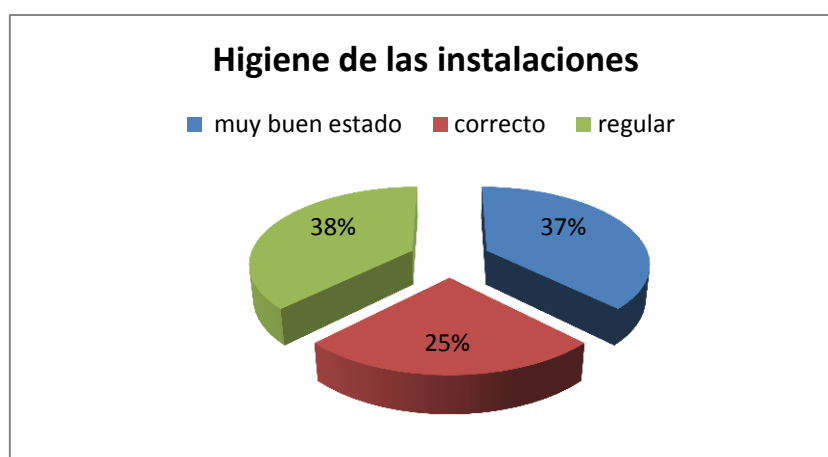


Gráfico 19: Higiene de las instalaciones.

Mantenimiento e Higiene de los equipos y útiles de trabajo.

El adecuado estado de la maquinaria, equipos y útiles facilita el proceso de limpieza y desinfección. Así, por ejemplo, la presencia de superficies rugosas puede dar lugar a la aparición de *biofilms*, que resisten los procedimientos de limpieza habituales. De especial importancia en este apartado son los equipos y útiles que van a estar en contacto con las canales. En cuanto al estado de mantenimiento de los distintos equipos utilizados durante el faenado de los animales (Gráfico 20), también se hizo una estimación en global de todos los equipos presentes, como se puede comprobar, el estado del 63% de los equipos de los distintos mataderos visitados se consideró regular, por lo que esto sería un aspecto a mejorar ya que se observaron equipos con deficiencias.

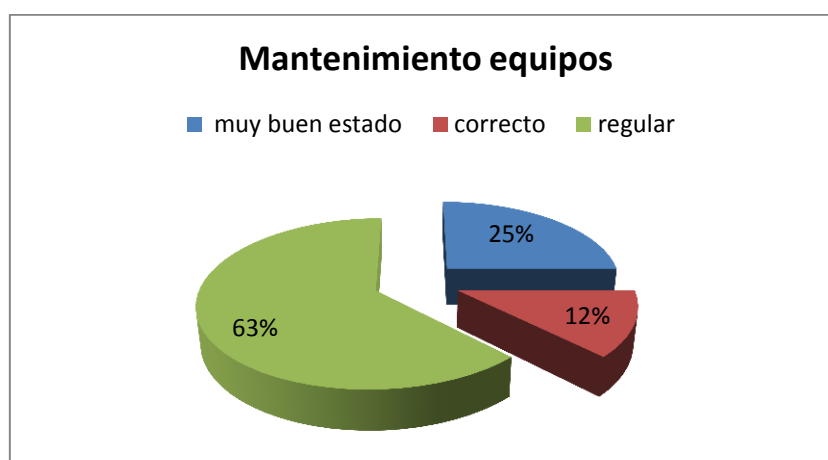


Gráfico 20: Mantenimiento de los equipos.

La higiene de los equipos utilizados en los mataderos visitados (Gráfico 21), se consideró correcta en un 63% de los casos y buena en un 37% de los mismos. Como ocurre en el caso anterior, se encontraron equipos y útiles con ligeras deficiencias de higiene, esto en el caso de que sean equipos y útiles que pueden entrar en contacto con las canales supone un foco importante de contaminación a tener en cuenta. Sin embargo, en este estudio, ninguno de las dos variables anteriores (que en ningún caso fueron malas), influyeron en la contaminación final de la canal por *Salmonella* spp. o *Campylobacter* spp. ($P > 0,05$).

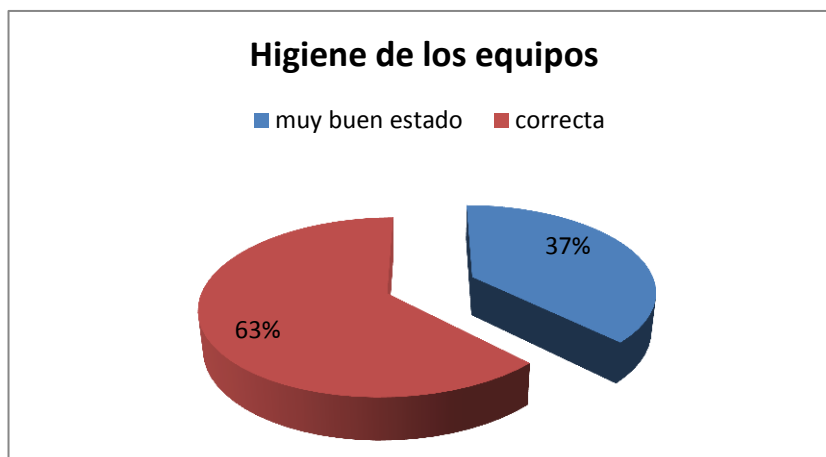


Gráfico 21: Higiene de los equipos.

Formación de los manipuladores.

En este apartado de la encuesta se valoró la implantación de la formación recibida por los manipuladores, ya que, según los resultados de las encuestas, todos los mataderos disponían de un plan de formación para los empleados. No obstante, como se puede observar en la gráfica (Gráfico 22), pese a haber recibido formación, no todos los manipuladores la aplicaban de forma correcta.

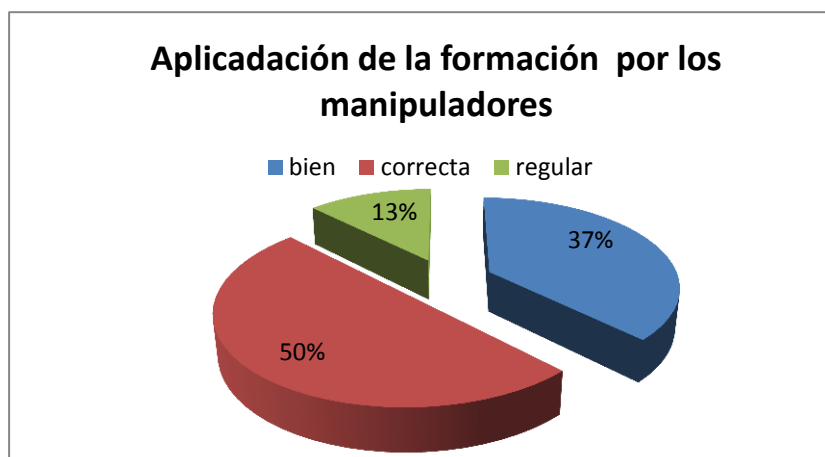


Gráfico 22: Aplicación de la Formación por los manipuladores.

Si nos centramos en la manipulación durante el faenado, en aquellos puntos que consideramos críticos para evitar la posible contaminación de las canales (Gráfico 23), en la etapa de evisceración, se pudo comprobar que un 13% de los operarios la realizaban de forma regular, lo que podría dar lugar a una posible contaminación de las canales durante la fase de eviscerado, esto podría ser debido a la falta de práctica de alguno de los operarios, o como se pudo también observar, al cansancio del operario en el momento de la visita.

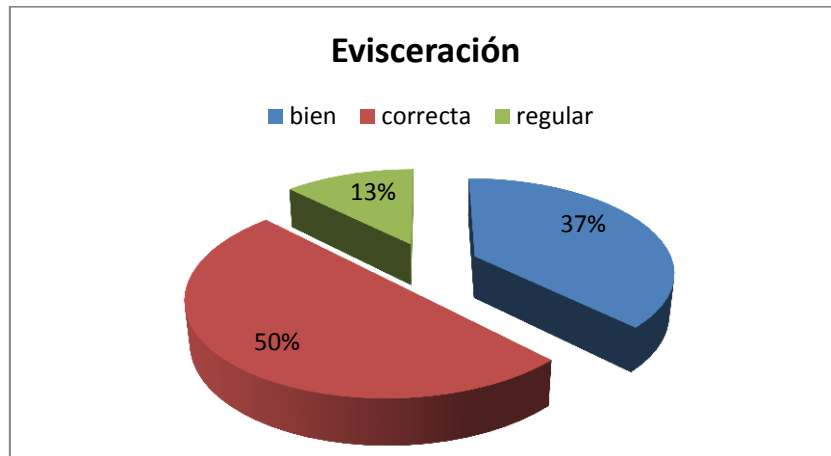


Gráfico 23: Manipulación en la etapa de evisceración.

En cuanto a la desinfección cuchillos que se utilizaron durante el faenado (Gráfico 24), un 75% de los operarios actuaba de forma correcta, desinfectando el cuchillo de forma que se evitara la contaminación cruzada, y un 25% lo hacía de forma intermitente o insuficiente. Sin embargo, en este estudio, ninguno de los parámetros anteriores (que en ningún caso fueron malas), influyeron en la contaminación final de la canal por *Salmonella* spp. o *Campylobacter* spp. ($P > 0,05$).

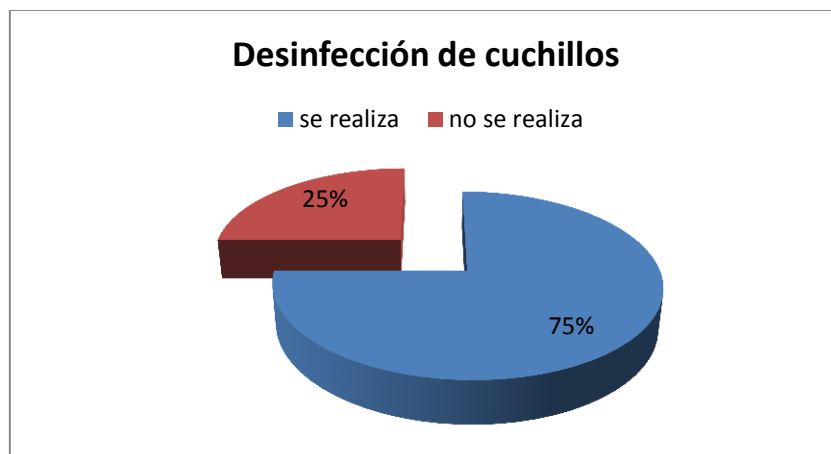


Gráfico 24: Desinfección de cuchillos.

Higiene de la vestimenta.

Durante las distintas etapas del faenado (Gráfico 25), se pudo observar que la vestimenta del manipulador (mandil protector y guantes de malla) entraba en contacto continuamente con las canales. De los resultados obtenidos de las encuestas se puede deducir que tan sólo el 37% de los operarios disponía de una vestimenta en condiciones higiénicas adecuadas y el resto estaría entre correcta y regular, lo que en determinadas circunstancias se podría considerar como insuficiente y podría ser causa de algún tipo de contaminación cruzada. Sin embargo, en este estudio, la higiene de la vestimenta durante el faenado (que en ningún caso fue mala), no influyó en la contaminación final de la canal por *Salmonella* spp. o *Campylobacter* spp. ($P>0,05$).

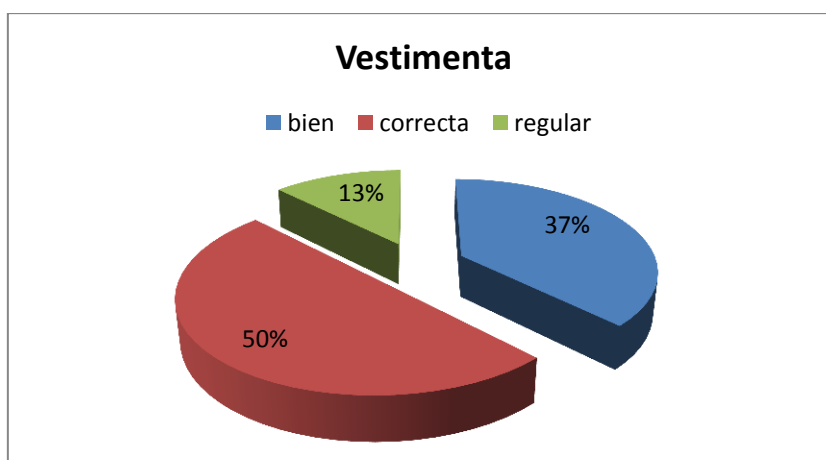


Gráfico 25: Higiene de la vestimenta.

Lavado de canales al final del proceso.

En cuanto al lavado de las canales al final del proceso (Gráfico 26), que puede disminuir parte de la carga microbiana de las canales, se efectuaba en el 75% de los mataderos visitados. El lavado no influyó en una mayor o menor presencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. tras la refrigeración ($P>0,05$).

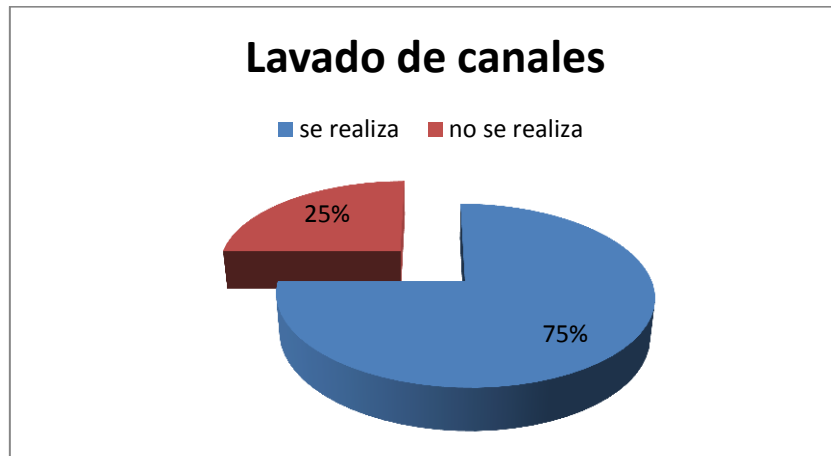


Gráfico 26: Lavado canales.

Existencia de túnel de pre-enfriado.

Por lo que respecta a la existencia de un túnel de pre-enfriado (Gráfico 27), se observó que el 75% de los mataderos visitados las canales pasaban directamente a la cámara de frío y no existía un túnel de pre-enfriado. La existencia de un túnel de pre-enfriado no influyó en una mayor o menor presencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. tras la refrigeración ($P>0,05$).

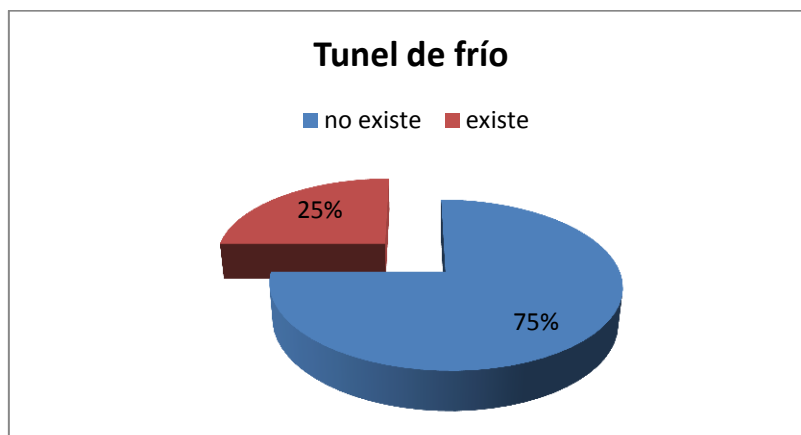


Gráfico 27: Túnel de pre-enfriado.

Ayuno de los animales.

De los resultados de las encuestas se puede extrapolar que prácticamente todos los animales llegaban al matadero en ayunas para facilitar la etapa de eviscerado (Gráfico 28). En aquellas ocasiones en que se visitó el matadero, y se encontraron animales que no estaban en ayunas, se debió a que hubo una falta de previsión o modificación del número de animales previstos de sacrificio, ya que, en ocasiones, no da tiempo a programar con suficiente antelación la compra y la llegada de los animales pudiéndose dar casos como los anteriormente descritos.

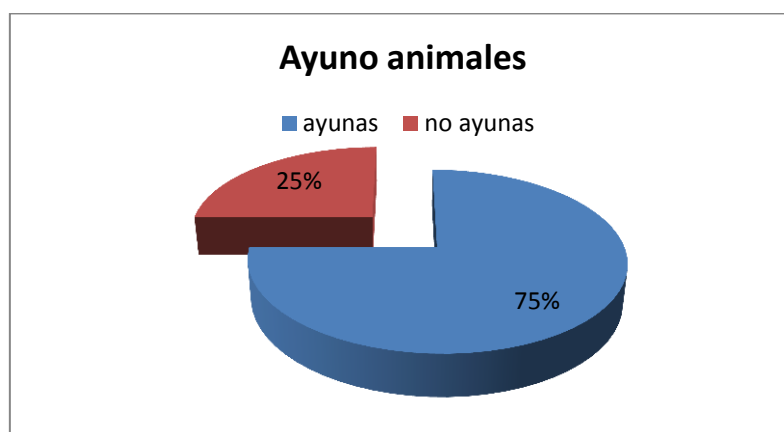


Gráfico 28: Ayuno de los animales.

Origen de los animales.

En todos los mataderos que se visitaron el origen de los animales sacrificados era de la propia CCAA o de comunidades limítrofes, excepto en un caso que los animales provenían de Andalucía (Gráfico 29).

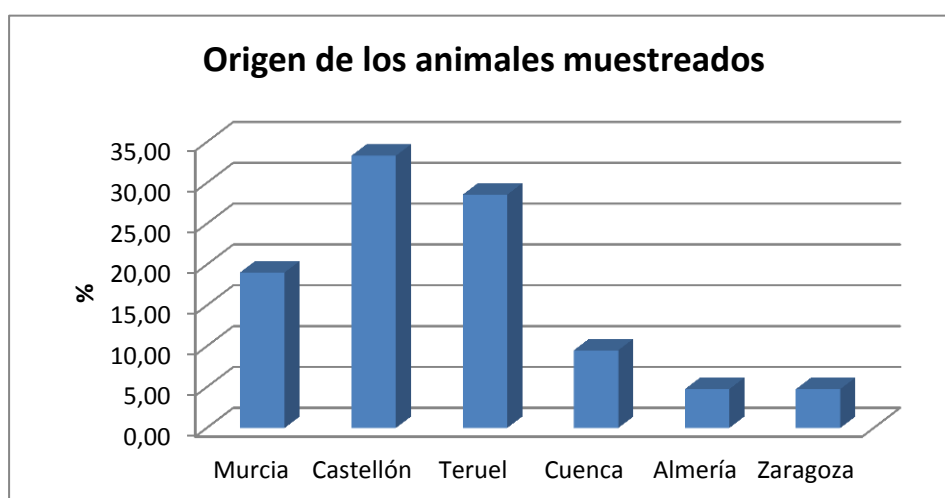
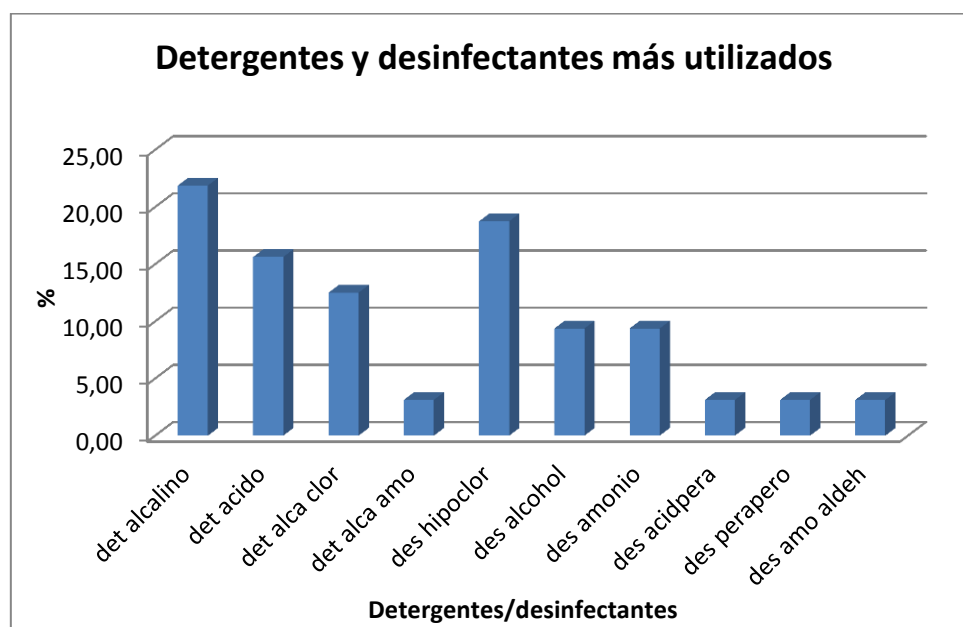


Gráfico 29: Origen de los animales muestreados.

Programas de limpieza y desinfección.

Todos los mataderos disponían de un programa de limpieza y desinfección, si bien las frecuencias de limpieza, el procedimiento de limpieza y el tipo de productos utilizados variaban en cada matadero. Todos los mataderos declararon utilizar el agua caliente en el proceso de limpieza, aunque durante las visitas, se pudo comprobar que no siempre se cumplía como para el caso de la limpieza de los corrales de espera.

En todos ellos se utilizaban detergentes (espumantes y no espumantes) alcalinos y ácidos en una primera fase, y posteriormente, se utilizaban desinfectantes, siendo los más utilizados, el hipoclorito sódico, amonios cuaternarios, ácido peracético, alcoholes, sales de amonio más aldehídos, ácido peracético más peróxido de hidrógeno más ácido acético (Gráfico 30). También se utilizaban detergentes y desinfectantes en un solo uso, siendo el más frecuente detergente alcalino clorado y detergente alcalino con amonio cuaternario, no se encontró relación entre los productos de limpieza y desinfección y la presencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. ($P>0,05$).



¹ Detergente alcalino; detergente ácido; detergente alcalino clorado; detergente alcalino con amonio; desinfectante hipoclorito sódico; desinfectante alcohólico; desinfectante amonio cuaternario; desinfectante ácido peracético; desinfectante ácido peracético con peróxido; desinfectante con amonio y aldehído.

Gráfico 30: Detergentes y desinfectantes más utilizados.

7.3. ESTUDIO *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. EN LOS MATADEROS DE PORCINO DE LA COMUNIDAD VALENCIANA.

Tras la realización de la encuesta, en cada una de las 21 visitas a matadero, se tomaron un total de 40 muestras, a excepción de la sesión 18 en la que se tomaron 38 muestras (dos muestras de ciegos se derramaron y no se pudieron analizar). A lo largo del estudio se recogieron un total de 838 muestras en las diferentes etapas de matadero, desde la llegada de los cerdos al muelle de descarga hasta la canal refrigerada. De las 838 muestras, 420 muestras se destinaron para el aislamiento de para *Salmonella* spp. y 418 se destinaron para el aislamiento de *Campylobacter* spp. (Tabla 18).

Tabla 18: Número y porcentaje de muestras recogidas por matadero objeto de estudio.

Matadero	n	%
1	240	28,6
2	80	9,5
3	278	33,2
4	40	4,8
5	40	4,8
6	80	9,5
7	40	4,8
8	40	4,8

n: número de muestras recogidas por matadero. **%:** porcentaje de muestras recogidas frente a la totalidad de las recogidas en el estudio.

En relación al número de muestras positivas a ambos patógenos, *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp., podemos observar que la mayor positividad la encontramos en el matadero 8, seguido del 2, el 7 y el 4. Por otro lado, con prevalencias más bajas encontramos los mataderos 1, 3 y 5. Finalmente, la positividad más baja a ambos patógenos se encontró en el matadero 6 (Tabla 19).

Tabla 19: Porcentaje de muestras positivas a ambos patógenos de importancia en Salud Pública (*Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp.) en función del matadero estudiado.

Matadero	%	ES
8	65 ^d	7,5
2	55 ^{bd}	5,6
7	48 ^{abd}	7,9
4	40 ^{ab}	7,7
1	33 ^{ac}	3
3	30 ^c	2,7
5	30 ^{ac}	7,2
6	13 ^e	3,7

ES: Error Estándar. Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre la positividad obtenida en los diferentes mataderos ($P \leq 0,05$).

En relación al número de muestras recogidas, en este estudio se siguieron 5 canales de cada uno de los 21 lotes estudiados, a lo largo de toda la cadena de procesado (Gráfico 31). Como se ha indicado anteriormente, las muestras recogidas por lote fueron de heces de las cuadras de (n=2), agua de la fase de escaldado (n=2), latiguillos/palas (n=2), cuchillos de corte (n=2), operarios (n=2), ciegos (n=10) y, por último, superficies de la canal antes y después de la refrigeración (n=10, respectivamente).



Gráfico 31: Número de muestras recogidas por matadero.

Del total de muestras analizadas (n=838), un 34,6% estaban contaminadas con alguno de los dos patógenos estudiados.

Como se puede observar en la Tabla 20, las muestras más contaminadas fueron los ciegos (58,2%), seguidos de las heces (54,8%) y las canales antes de la refrigeración (40,5%). Con una contaminación menor encontramos las superficies de los latiguillos (26,2%), operarios (21,4%), canal después de la refrigeración (17,1%) y cuchillos (11,9%). No se encontró ninguna muestra de agua de los tanques de escaldado positiva a ninguno de los dos patógenos, ni para *Salmonella* spp., ni para *Campylobacter* spp.

Tabla 20: Porcentaje de muestras positivas a ambos patógenos de importancia en Salud Pública (*Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp.).

Tipo de muestras	n	%	ES
Heces	42	54,8 ^{ab}	7,7
Agua escaldado	42	0 ^d	0
Latiguillos	42	26,2 ^c	6,8
Ciegos	208	58,2 ^a	3,4
Cuchillos	42	11,9 ^c	5
Operarios	42	21,4 ^c	6,3
Canal antes	210	40,5 ^{bc}	3,4
Canal después	210	17,1 ^c	2,6

n: número de muestras recogidas. %: porcentaje de muestras positivas frente a los patógenos de importancia en Salud Pública (*Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp.). ES: Error Estándar. Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre la positividad obtenida en los diferentes tipos de muestras ($P \leq 0,05$).

Si nos basamos en los resultados obtenidos para *Salmonella* spp. (Tabla 21), en orden decreciente, las muestras más contaminadas fueron las heces (52,4%), los ciegos (46,7%), los latiguillos (38,1%), las canales antes de la refrigeración (32,4%), los guantes y mandiles de los operarios (14,3%), los útiles de corte (9,5%) y por último las canales tras la refrigeración (7,6%).

Tabla 21: Porcentaje de positividad a *Salmonella* spp. en función de la muestra recogida en matadero.

Tipo de muestras	n	%	ES
Heces	21	52,4 ^{ab}	10,9
Agua escaldado	21	0 ^d	0
Latiguillos	21	38,1 ^{ab}	10,6
Ciegos	105	46,7 ^a	4,9
Cuchillos	21	9,5 ^c	6,4
Operarios	21	14,3 ^c	7,6
Canal antes	105	32,4 ^b	4,6
Canal después	105	7,6 ^c	2,6

n: número total de muestras recogidas en matadero en función del tipo de muestra. %: porcentaje de muestras positivas frente a *Salmonella* spp. ES: Error Estándar. Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre la positividad obtenida en los diferentes tipos de muestras ($P \leq 0,05$).

Si nos basamos en los resultados obtenidos para *Campylobacter* spp, en orden decreciente (Tabla 22), las muestras más contaminadas fueron los ciegos (69,6%), las heces (57,1%), las canales antes de la refrigeración (48,6%), los guantes y mandiles de los operarios (28,6%), las canales tras la refrigeración (26,7%) y, por último, los latiguillos y los cuchillos de corte (14,3%).

Tabla 22: Porcentaje de positividad a *Campylobacter* spp. en función de la muestra recogida en matadero.

Tipo de muestras	n	%	ES
Heces	21	57,1 ^{ab}	10,8
Agua escaldado	21	0 ^d	0
Latiguillos	21	14,3 ^c	7,6
Ciegos	103	69,9 ^a	4,5
Cuchillos	21	14,3 ^c	7,6
Operarios	21	28,6 ^c	9,9
Canal antes	105	48,6 ^b	4,9
Canal después	105	26,7 ^c	4,3

n: número total de muestras recogidas en matadero en función del tipo de muestra. %: porcentaje de muestras positivas frente a *Campylobacter* spp. ES: Error Estándar. Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre la positividad obtenida en los diferentes tipos de muestras ($P \leq 0,05$).

Tras la realización de la prueba de Hidrólisis de Hipurato para la identificación de las especies, del número total de muestras positivas a *Campylobacter* spp. obtenidas en el estudio, un 41,4% se identificaron como *Campylobacter jejuni* y un 58,5% como *Campylobacter* spp. (otros). Por mataderos, en orden decreciente *Campylobacter jejuni* ha sido la especie predominante en los mataderos 4 y 7; mientras que *Campylobacter* spp. ha sido la especie predominante en los mataderos 1, 3, 5, 6, 8; sin embargo, en el matadero 2 los porcentajes estaban igualados para ambas especies.

Si atendemos al tipo de muestra, *Campylobacter* spp. ha sido mayoritariamente identificada en las muestras fecales (heces y ciegos), con un 62,3% y en las muestras de canales antes del frío con un 62%, mientras que en las muestras de superficies (latiguillos, cuchillos y operarios) no se han obtenido diferencias significativas. El número de muestras positivas a *Campylobacter jejuni* ha sido ligeramente superior con un 53,57% a *Campylobacter* spp, en las muestras obtenidas de las canales tras la refrigeración.

Las cepas de *Salmonella* spp. aisladas fueron analizadas para determinar los serotipos en el Centro de Investigación Animal CRESA-IRTA (Centre de Recerca en Sanitat Animal, Barcelona, Spain) de acuerdo con la técnica *Kauffman-White-Le Minor*.

Salmonella Typhimurium monofásica (mST) con un 53,3% fue el serotipo predominante seguido de *Salmonella* Rissen con 25,5%, *Salmonella* Reading con un 12,2%, *Salmonella* Albona con un 5,6%, *Salmonella* Derby con un 2,2% y *Salmonella* Kendougou con un 1,1%.

8. DISCUSIÓN.

8. DISCUSIÓN.

Salmonella spp. y *Campylobacter* spp. son los agentes patógenos causantes de la mayoría de los casos de gastroenteritis humanas diagnosticadas en el mundo (OMS, 2015b). En el último informe de la UE se pone de manifiesto que *Campylobacter* spp. es la primera y *Salmonella* spp. la segunda responsable de enfermedades zoonóticas asociadas al consumo de alimentos, de estos la carne de pollo contaminada es la causa más común que da lugar a la infección en el hombre (EFSA, 2015b). No obstante, hay que tener en cuenta que el consumo de otro tipo de alimentos con gran demanda de consumo, como es la carne de cerdo y sus productos derivados pueden ser también una fuente importante de salmonelosis y campilobacteriosis en humanos si estos se encontraran contaminados (Berends *et al.*, 1998; Cai *et al.*, 2016).

Una forma de reducir la presencia de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. como agentes causantes de infecciones en el hombre, podría ser la disminución de la prevalencia de estos patógenos en la producción primaria, de esta forma al reducir la introducción de animales altamente contaminados en el matadero, se disminuiría la posibilidad de contaminación en el producto final. Como hemos comentado anteriormente, esta estrategia ha obtenido resultados positivos para el caso de *Salmonella* spp., donde tras la implantación de programas nacionales de vigilancia y monitorización para este patógeno en aves se ha venido observando una reducción significativa de casos de salmonelosis en el hombre desde el año 2008 (EFSA, 2014a; EFSA, 2015b).

Por otra parte, es conocida la influencia de la cadena alimentaria en el estado microbiológico final del producto. El sacrificio de cerdos infectados por *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. representa un riesgo para la contaminación de las canales, introduciendo *Salmonella* spp. en la cadena alimentaria (Marier *et al.*, 2014, Cai *et al.*, 2016). En este contexto, el estudio de los procesos de faenado y la posibilidad de contaminación cruzada durante el sacrificio de los animales en matadero es imprescindible para prevenir la presencia de estos patógenos en los productos de origen porcino. Las actuaciones realizadas en el matadero sobre todo en la etapa de eviscerado y en etapas posteriores que permitan disminuir la posibilidad de contaminación en las canales, se consideran las medidas más efectivas para reducir los casos de salmonelosis por consumo de carne de cerdo (Wheatley *et al.*, 2014; Hill *et al.*, 2016). Además, no hay que olvidar, que junto con el grave problema que supone la aparición de infecciones alimentarias asociadas al consumo de alimentos contaminados con alguno de estos patógenos, se presenta un problema añadido en el ámbito de la salud pública, como es la aparición de resistencias a antibióticos en cepas de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. aisladas tanto en animales, como en alimentos de origen animal destinados a consumo humano.

Por lo que respecta a la CV, no hemos encontrado a día de hoy otro estudio similar en la bibliografía, que describa la presencia de ambos patógenos durante la cadena de sacrificio, ni en los productos resultantes.

8.1. PREVALENCIA DE *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. EN MATADEROS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA.

Como se ha descrito anteriormente el estudio se realizó en 8 mataderos de la CV que sacrificaban porcino, de los resultados obtenidos en nuestro estudio respecto a la positividad a ambos patógenos, se puede observar una gran diferencia entre los distintos mataderos, estando comprendida entre el 13%, el matadero con menor positividad, y el 65%, el matadero con mayor positividad, siendo en general unas cifras altas en cuanto al criterio de riesgo se refiere.

La posible influencia del matadero en la positividad final de las canales ha sido anteriormente estudiada por otros autores, los resultados de nuestro trabajo están de acuerdo con las conclusiones obtenidas en estos estudios que, como en nuestro caso, realizaron sus trabajos de investigación tomando las muestras en distintos mataderos, encontrando variaciones comprendidas entre el 0% y el 70% respecto a positividad a *Salmonella* spp. (Botteldoorn *et al.*, 2003). Otros autores también encontraron diferencias estadísticamente significativas en proporción al número total de muestras positivas a *Salmonella* spp. en los distintos mataderos estudiados (Käsbohrer *et al.*, 2000, Piras *et al.*, 2011, Gomes Neves *et al.*, 2012).

Piras *et al.* (2011), tras realizar distintas tomas de muestras en 5 mataderos distintos en la isla de Cerdeña, encontraron diferencias de prevalencia a *Salmonella* spp. comprendidas entre el 36% del matadero con mayor positividad al 0 % detectado en el matadero con menor positividad. Lo que coincide con nuestro estudio, ya que en el mismo se han encontrado diferencias de positividad entre los mataderos. Además, las condiciones higiénicas entre los distintos mataderos estudiados varían mucho, y estas pueden influir de forma notable suponiendo un impacto importante en la contaminación de las canales (Mc Dowell *et al.*, 2007).

Una de las causas que puede influir en la positividad es la posibilidad de que los distintos lotes de animales vengan con distintos estados sanitarios de granja (Käsbohrer *et al.*, 2000, Hald *et al.*, 2003, Baptista *et al.*, 2010). Además, puede ocurrir que estos animales que no eran positivos se contagien durante el transporte o en los corrales de espera en los momentos previos a su sacrificio, incrementando su prevalencia (Hurd *et al.*, 2001b, 2005; Bonardi *et al.*, 2016).

En la línea de lo anteriormente descrito, se han realizado estudios para determinar la influencia de la positividad de los animales, en la contaminación de la canal final por *Salmonella* spp., realizando para ello sacrificios logísticos (en base a lotes de animales con distintas positivities), llegando a la conclusión de que no hay beneficios claros sobre el sacrificio de animales con mayor o menor positividad, ya que los resultados obtenidos no se correspondían con lo esperado, es decir, no se obtuvieron canales con menor positividad, por sacrificar animales con baja prevalencia, por lo que tanto los procesos de los mataderos como el estado higiénico de los mismos, influye notablemente en el resultado final (Argüello *et al.*, 2012, 2014).

Sin embargo, Swanenburg *et al.*, (2001c), concluyó en su estudio que separar el sacrificio de animales seronegativos de los que eran seropositivos, podría ser útil para disminuir la prevalencia de *Salmonella* spp. en las canales al evitar el riesgo de contaminaciones cruzadas.

Por el contrario, en otros estudios efectuados no se han encontrado diferencias significativas entre los mataderos donde se han tomado las muestras; Hald *et al.*, (2003), tras realizar un estudio en 12 mataderos de 5 países europeos, encontraron pocas diferencias en la proporción de positividad a *Salmonella* spp. en 7 mataderos de 4 países, pero por otro lado este grupo de mataderos se diferenciaban de los 5 restantes donde no se encontró presencia de *Salmonella* spp.

En cuanto a estudios realizados en España, tras tomar muestras en mataderos diferentes, no se encontraron diferencias significativas entre ellos, pero sí se encontraron grandes variaciones cuando se tomaron las muestras en distintos días en el mismo matadero (Argüello *et al.*, 2012). En nuestro estudio también se han podido observar diferencias respecto a la positividad de ambos patógenos en aquellos mataderos donde se tomaron muestras en días distintos, lo que también ha sido observado por otros autores (Botteldoorn *et al.*, 2003; Hald *et al.*, 2003; Käsbohrer *et al.*, 2000).

Existen diferencias en la contaminación de las canales, según el día en que se tome la muestra, aumentando la positividad si la muestra se toma al final de la semana, respecto a si se realiza al principio de la misma, y esta influencia del matadero es independiente del estado sanitario en que llegan los cerdos (Mc Dowell *et al.*, 2007). Según Botteldoorn la variación de la positividad en función del día en que se tomen las muestras puede variar entre el 3% y el 52% (Botteldoorn *et al.*, 2003). También se han encontrado diferencias según el momento del día en el que se tomen las muestras, así en un estudio efectuado en el Reino Unido se ha encontrado un mayor riesgo de contaminación de las canales conforme avanza el día (Marier *et al.*, 2014).

8.2. DETECCIÓN DE *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. EN MUESTRAS DE MATADEROS.

Si consideramos el porcentaje de muestras positivas a ambos patógenos, del total de muestras analizadas en nuestro estudio, 838, un 34% estaban contaminadas con alguno de los patógenos estudiados, esto se podría considerar un porcentaje muy elevado, teniendo en cuenta las medidas que se deben de tomar a nivel de campo para el control de microorganismos patógenos (Directiva 2003/99/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 17 de noviembre de 2003).

Anteriormente, se han realizado estudios para ambos patógenos por separado, que hacen referencia al número total de muestras contaminadas. Para el caso de la presencia de *Salmonella* spp. en las muestras, encontramos datos de prevalencia altos como el 39% de un estudio realizado en Brasil en granjas y mataderos (Kich *et al.*, 2011), otros con una prevalencia menor como el 14,1% encontrado en Bélgica (De Busser *et al.*, 2011), el 17,6% descrito en Portugal (Gomes-Neves *et al.*, 2012,) o el 10,86% en España (Hernández *et al.*, 2013). Además, otros autores obtuvieron prevalencias muy bajas, como el 6,2% en Alemania de Käsbohrer *et al.* (2000).

En cuanto al número total de muestras positivas para *Campylobacter* spp., se encuentra gran disparidad entre los resultados obtenidos por los distintos autores. Así en un estudio se obtuvo un 63,6% de prevalencia (Malakauskas *et al.*, 2006) y sin embargo en otro, la cifra fue muy inferior con un 3,5% (Szygalski *et al.*, 2011). Por otro lado, en un estudio efectuado en distintos mataderos de la Republica Checa durante varios años consecutivos se pudo observar que la prevalencia fue disminuyendo años tras año, en el primer año fue de un 34%, pasando a un 27% en el año siguiente y en el último año del estudio se obtuvo un 16% (Steinhauserova *et al.*, 2005).

8.2.1. Detección de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en agua de escaldado.

Por lo que respecta a las muestras de agua de escaldado tomada durante el proceso de sacrificio, ninguna de las muestras recogidas estaba contaminada con ninguno de los dos patógenos objetos de estudio. En cuanto a la contaminación del agua de escaldado con *Salmonella* spp. algunos autores, en contra del presente estudio, han detectado *Salmonella* spp. en algunas muestras de agua de escaldado (Argüello *et al.*, 2012, Hald *et al.*, 2003, Swanenburg *et al.*, 2001b). Atendiendo a lo anteriormente descrito, las muestras positivas detectadas se han asociado con temperaturas inadecuadas (demasiado bajas) en el agua de escaldado en el momento de la toma de muestras (Hald *et al.*, 2003, Swanenburg *et al.*, 2001b).

Por el contrario, otros autores coinciden con nuestro estudio y no encuentran positividad a *Salmonella* spp. en el agua de escaldado, por encima de los 60°C (Pearce *et al.*, 2004., Botteldoorn *et al.*, 2003., Giovannacci *et al.*, 2001). La temperatura a la que se encuentra el agua de escaldado, es un factor muy importante ya que no se ha podido detectar *Salmonella* spp. cuando la temperatura es mayor de 62°C durante la actividad del matadero (Giovannacci *et al.*, 2001, Hald *et al.*, 2003). Hernández *et al.*, (2013), consideran que el agua de escaldado es un factor de protección siempre que se encuentre en un rango entre 59°C y 62°C. El escaldado reduce de forma significativa la incidencia de *Salmonella* spp. en la canal, pasando de un 31% de positividad en las fases anteriores al escaldado (sangrado) a un 1% tras pasar por el escaldado, por lo que considera que la temperatura del agua de escaldado se debería de considerar como un PCC (Pearce *et al.*, 2004). De acuerdo con lo anteriormente descrito Letellier *et al.*, (2009), encuentran en su estudio que cuando en el agua de escaldado no se detecta *Salmonella* spp. su presencia en las canales disminuye.

En referencia a *Campylobacter* spp., nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Steinhäuserova *et al.* (2005), que no encontraron ninguna cepa de *Campylobacter* spp. en agua de escaldado. En el sector avícola se han hecho más estudios en referencia a la supervivencia de *Campylobacter* spp. en agua de escaldado de los mataderos, y se ha demostrado, que, aunque puede sobrevivir cuando la temperatura no es adecuada, no es realmente un factor de riesgo importante, ya que las cepas obtenidas a nivel de piel de cuello en el producto final, difieren de las que están presentes en el tanque (Gruntar *et al.*, 2015). Sin embargo, la supervivencia de *Campylobacter* spp. en el agua sigue siendo hoy en día tema de controversia entre distintos autores, se cree que la bacteria adquiere en el agua adquiere dos formas de supervivencia, por un lado, se recubre de una matriz exopolisacárida conformando un *biofilm* que la hace hasta 30 veces menos susceptible a agentes biocidas (Joshua *et al.*, 2006). Por otro lado, ante condiciones adversas como puede ser el agua del tanque de escaldado, es capaz de adoptar una forma viable no cultivable, lo que nos impide detectarla con las metodologías microbiológicas oficiales, pero sigue siendo una forma infectiva (Cox *et al.*, 2001, Oliver 2005, Fakruddin *et al.*, 2013).

8.2.2. Detección de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en muestras fecales (heces y ciegos).

Si analizamos los resultados de todas las muestras positivas a ambos patógenos, se puede observar, que la mayor positividad se da en las muestras fecales, las heces (54,8%) y los ciegos (58,2%) de los animales. Estos resultados coinciden con los del estudio realizado por Niemann en Alemania, sobre la prevalencia simultánea de *Salmonella* entérica, *Campylobacter* spp. y *Yersinia enterocolitica* en matadero, donde el 60% de las muestras obtenidas de los ciegos fueron positivas al menos a uno de los patógenos (Niemann *et al.*, 2016).

Tal y como se ha explicado anteriormente, las muestras de heces se tomaron de los corrales de espera donde se encontraban los animales, de los que posteriormente, se obtuvieron el resto de muestras constituyendo el lote de referencia del estudio.

Numerosos estudios han demostrado mayor tasa de prevalencia de *Salmonella* spp. en cerdos analizados en el matadero, que cuando estos mismos se analizaban en la granja (Hurd *et al.*, 2001b, 2002; Morgan *et al.*, 1987). Este incremento de la prevalencia en matadero ha sido atribuido al efecto del estrés en el manejo y en el transporte, ya que el estrés incrementa la secreción de *Salmonella* spp. en los animales portadores (Isaacson *et al.*, 1999; Fernández *et al.*, 2006). Además, otros autores han demostrado diferencias entre los serotipos encontrados tras el sacrificio en el matadero o tras realizar necropsias en granjas. Esta diferencia sugiere que los cerdos pueden haber sido expuestos a nuevas infecciones de *Salmonella* spp. después de haber dejado la granja, principalmente durante el transporte y en los corrales de espera (Hurd *et al.*, 2001b, 2002; Milnes *et al.*, 2009; Kirchner *et al.*, 2011).

Aunque en el presente estudio no se han obtenido muestras anteriores al transporte de los animales, la influencia del transporte de los animales al matadero ha sido objeto de numerosos estudios (Berends *et al.*, 1996; Hurd *et al.*, 2001a, 2001b, 2002, 2003). En esta línea, un estudio que evalúa la influencia del transporte en la excreción de patógenos, como *Salmonella* spp., en aves en la misma comunidad autónoma, pone de manifiesto que la excreción de *Salmonella* spp. aumenta hasta un 50% tras el transporte de los animales, dando lugar además a una modificación en el patrón de serotipos excretados (Marín y Laínez, 2009). Sin embargo, otros investigadores no encontraron diferencias estadísticamente significativas a causa del transporte y la estancia en los corrales de espera (Käsbohrer *et al.*, 2000).

Los corrales de espera de los mataderos son un importante factor de riesgo para las infecciones cruzadas que no provienen de la granja (González *et al.*, 2015). Un tiempo largo de estabulación en los mismos (entre 12 y 72 horas) incrementa la tasa de prevalencia (Morgan *et al.*, 1987; Swanenbourg *et al.*, 2001a; Boughton *et al.*, 2007; Bonardi *et al.*, 2016).

En condiciones experimentales, se ha podido demostrar que los cerdos expuestos a una presión infectiva ambiental elevada, pueden infectarse, detectándose la *Salmonella* spp. en heces y ciegos a las dos horas de la exposición (Hurd *et al.*, 2001a; Swanenbourg *et al.*, 2001a; Boughton *et al.*, 2007). La mayoría de los mataderos visitados en nuestro estudio tenían a los cerdos en los corrales de espera más de dos horas llegando en ocasiones a superar las 10 horas. La alta tasa de positividad en heces observada en nuestras muestras con un 54,8% para ambos patógenos, un 52,4% para *Salmonella* spp. y un 57,1% para *Campylobacter* spp., de acuerdo con lo anteriormente descrito constituye un factor de riesgo importante para la contaminación posterior de las canales. Según un estudio realizado en el Reino Unido el uso de muestras de mezclas fecales (como es este caso), para la detección bacteriológica de *Salmonella* spp. fue considerado más sensible que la detección individual, puesto que se incrementa la probabilidad de la detección de positivos a *Salmonella* spp. (Arnol *et al.*, 2005).

En cuanto a los datos obtenidos en este estudio referentes a la positividad en heces a *Salmonella* spp., se obtiene un 52,4% de prevalencia, valor similar al detectado en otros estudios, como el 62,5% obtenido en los corrales de mataderos de España, el 59% obtenido en Brasil (Argüello *et al.*, 2012 y Kich *et al.*, 2011, respectivamente). Estos valores son también similares al 49,3% obtenido por Bonardi, en muestras tomadas con hisopos en el suelo de los corrales de espera de un matadero del norte de Italia (Bonardi *et al.*, 2016). En contraposición, en un estudio efectuado en cerdos en Alemania la positividad detectada fue muy inferior, concretamente de un 3,7% (Käsbohrer *et al.*, 2000).

Por lo que respecta a la positividad de *Campylobacter* spp. en heces, en este estudio se obtuvo una positividad del 57,1%, muy similar a los valores encontrados por otros autores, como el 59,3% de muestras positivas tomadas con hisopo rectal (Alexandrina y Botos, 2008). Por el contrario, otros autores consideran la positividad muy superior, cercana al 100% en heces de muestra rectal (Pearce *et al.*, 2003), dato que confirman otros investigadores, cuando las muestras se toman del tracto gastrointestinal (Nesbakken *et al.*, 2003).

La positividad para ambos patógenos en las muestras tomadas en los ciegos de los animales seleccionados en el presente estudio se puede considerar alta con un 58,2%. Si nos fijamos en cada uno de los patógenos por separado, también se ha obtenido positivities muy altas con un 46,7% de positividad para las muestras de *Salmonella* spp. y un 69,6% para *Campylobacter* spp. Diferentes autores ponen de manifiesto, que, en aquellos animales con contenido intestinal positivo, se incrementa el riesgo de contaminación posterior en las canales, sobre todo en la fase de evisceración ya que durante esta fase se puede producir rotura del paquete intestinal y contaminar la canal (Borch *et al.*, 1996; Vieira-Pinto *et al.*, 2006; Gomes-Neves *et al.*, 2012; Marier *et al.*, 2014).

Los resultados obtenidos de *Salmonella* spp. en las muestras tomadas en los ciegos de los animales, son superiores a los obtenidos por otros autores, como el 33,8% y el 31,4% de Argüello *et al.*, (2012) y Mc Dowell *et al.*, (2007), respectivamente. En un estudio efectuado en Holanda, la positividad detectada fue todavía menor con un 21,9% (Oosterom *et al.*, 1985), valor muy similar al 22% obtenido por Marier en un estudio efectuado en el Reino Unido (Marier *et al.*, 2014).

En cuanto a los resultados obtenidos sobre la presencia de *Campylobacter* spp. en los ciegos de los animales estudiados, estos son también mayores que los aportados por otros autores, como los de un estudio realizado en Bulgaria con un 50% de positividad (Maramski, 2012) o en otro estudio efectuado en la Republica Checa durante tres años consecutivos (2001, 2002, 2003) en los que se encontró una prevalencia del 55% para el primer año, del 53% el segundo año, y en el último año, la positividad de los ciegos había descendido hasta un 16% (Steinhauserova *et al.*, 2005). Por el contrario, otras investigaciones muestran positivities muy superiores el 78,0% obtenido por Oosterom *et al.* (1985) y Guevremont *et al.* (2004) o el 80% de muestras positivas recogidas en colon (Pearce *et al.*, 2003). En nuestro estudio un 37,6% de las muestras fecales (heces y ciegos), fueron identificadas como *Campylobacter jejuni*, mientras que un 62,3%, se identificaron como *Campylobacter* spp. Otros autores, identificaron a *Campylobacter coli* como la especie más común obtenida en muestras fecales (Alexandrina y Botos, 2008; Nesbakken *et al.*, 2003). Estos resultados podrían coincidir con los nuestros, pero con los datos disponibles a día de hoy tan sólo podemos afirmar que las muestras identificadas como *Campylobacter* spp. son superiores a las identificadas como *Campylobacter jejuni*.

De acuerdo con los resultados obtenidos en nuestro estudio, Argüello *et al.* (2012) no encontraron asociación estadísticamente significativa entre la contaminación externa de las canales, las muestras de heces recogidas en las granjas y las recogidas en ciegos. Según este estudio las canales contaminadas por *Salmonella* spp. estaban distribuidas por igual entre animales que eran portadores de *Salmonella* spp., animales que eran excretores y animales que no eran positivos.

8.2.3. Detección de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en muestras de superficies.

Como se ha descrito anteriormente una gran parte de las contaminaciones de las canales no provienen directamente del tracto gastrointestinal de los animales, y son causadas por la contaminación cruzada con las superficies, equipos y útiles del matadero durante el proceso de sacrificio (Oosterom *et al.*, 1985, Szygalski *et al.*, 2011; Van Hoek *et al.*, 2012). En el presente estudio se han encontrado tasas de positividad altas para ambos patógenos en equipos, útiles e indumentaria de los operarios que están en contacto directo con las canales. Estudios realizados con anterioridad han demostrado que la contaminación de las canales puede ocurrir a causa de la carga intestinal del propio cerdo, pero también por contaminación cruzada con otras canales y con superficies de mataderos (Botteldoorn *et al.*, 2003, 2004; Vieira-Pinto *et al.*, 2006). En otros como el realizado en tres mataderos de Dinamarca, llegaron a la conclusión de que había una clara asociación entre la serología de los cerdos sacrificados y la prevalencia de *Salmonella* spp. detectada en tres de las muestras: contenido cecal, faringe y superficie de las canales (Sørensen *et al.*, 2004).

Si atendemos a los resultados de positividad a ambos patógenos en este estudio, observamos que la muestra obtenida en la depiladora (palas, flageladoras o latiguillos) con un 26,2%, es la muestra más contaminada, seguida de la muestra de los operarios (guantes y mandiles) con un 21,4% y por último los cuchillos con un 11,9%. Muchos autores han evaluado con anterioridad la contaminación por *Salmonella* spp. de las líneas de sacrificio de un matadero de porcino obteniendo resultados similares (Botteldoorn *et al.*, 2003; Giovannacci *et al.*, 2001). En esta línea, Argüello *et al.* (2012) encontraron una gran contaminación por *Salmonella* spp. en distintas fases asociadas al proceso de sacrificio.

En otro estudio realizado posteriormente por el mismo autor, tras tomar muestras del personal y de los útiles durante tres días seguidos en el mismo matadero, pero sacrificando cada día lotes de animales que provenían de granjas con distintas prevalencias a *Salmonella* spp. (alto riesgo, medio riesgo y bajo riesgo), se obtuvieron resultados distintos a los que cabría esperar. Estos fueron un 8,8 % de positividad del día que se sacrificaron los cerdos con riesgo bajo, un 6,3 % de positividad el día que se sacrificaron los cerdos de alto riesgo y un 24,4% de positividad el día que se sacrificaron los animales de riesgo medio (Argüello *et al.*, 2014). Demostrando una vez más que siempre se tienen que considerar dos fuentes importantes de contaminación en los mataderos, por un lado, la que introducen los animales infectados y por otro lado la que introduce el entorno del propio matadero.

Piras *et al.* (2011) detectaron en su estudio un 35% de positividad a *Salmonella* spp. en muestras tomadas en superficies en contacto con el producto. De estas muestras de los mataderos estudiados, un 20% se correspondía a la depiladora, cifra muy similar, aunque un poco inferior a la obtenida en nuestro estudio con un 38,1%. Por el contrario, en otro estudio, se obtuvieron resultados con mayor positividad, con tasas cercanas a un 86% en el global de todas las muestras tomadas de superficies y un 27% de positividad en muestras de cuchillos (Botteldoorn *et al.*, 2003), sin embargo, nuestros resultados para las muestras de cuchillos fueron inferiores con un 9,5% de positividad. Otros autores aportan datos con menor positividad en las muestras tomadas en superficies como el 4,7% (Käsbohrer *et al.*, 2000) o el 5,6% en línea de sacrificio de matadero y tablas de corte en sala de despiece (Hernández *et al.*, 2013).

También se han encontrado, como en nuestro caso, diferencias de positividad dependiendo de los mataderos, Hald *et al.* 2003 demostró un 13,8% de media de positividad (variando entre un 6,3% y un 28,3% dependiendo del matadero estudiado).

Por otro lado, en un estudio efectuado en un matadero de Portugal (Gomes-Neves *et al.*, 2012), se detectó una positividad de un 9,3% en las manos de los manipuladores lo que contribuye a la posibilidad de que la *Salmonella* spp. pueda ser difundida por los trabajadores del matadero, esto también fue descrito en el estudio realizado por Hald *et al.*, (2003), donde encontraron resultados también muy similares a los obtenidos por Gomes-Neves, aunque en menor proporción. En nuestro estudio los datos referidos a la positividad de los manipuladores con un 14,3%, son muy superiores a estos, pero este hecho, puede explicarse porque las muestras recogidas se corresponden además de a las manos de los manipuladores (guantes de malla), a la contaminación de los mandiles. Berends *et al.* (1997) consideran que procesos inadecuados de limpieza en los equipos, junto con prácticas incorrectas durante la evisceración, son los puntos de mayor riesgo.

En cuanto a las muestras positivas a *Campylobacter* spp., los guantes y mandiles de los operarios resultaron ser la muestra más contaminadas, seguidas de la depiladora y cuchillos. Estos resultados son en general un poco inferiores a los obtenidos por Oosterom *et al.* (1985), con un 32,5% de positividad en superficies durante el sacrificio. Sin embargo, otros autores han detectado prevalencias muy inferiores en equipos entre el 4,8% y el 3% (Pearce *et al.*, 2003).

Por lo que respecta a la depiladora, el dato obtenido en nuestro estudio con un 14,3% de positividad se corresponde con los resultados obtenidos en el estudio de Stainhauserova *et al.* (2001). Este autor, durante el primer año de estudio, obtuvo un 11% de positividad, sin embargo, en los dos años posteriores de su estudio los resultados fueron disminuyendo al 8% del año 2002, hasta llegar al 0% del último año. Este hecho, lo atribuyeron a la posibilidad de que se hubieran introducido nuevas medidas sanitarias en los mataderos, que contribuyeron a disminuir la contaminación en las superficies.

En este mismo estudio, los resultados obtenidos para los útiles de corte, oscilaron entre el 25% del primer año y el 0% de los dos años siguientes, estos porcentajes fueron el primer año un poco superior a los nuestros y los dos últimos años muy inferiores a los nuestros, con un 14,3% de positividad. Por contra, Szygalski *et al.* (2011) obtuvieron una contaminación mucho más elevada tras el paso de las canales por la depiladora, con un 55,6% de positividad en las canales, atribuida a la dificultad para poder limpiar y desinfectar de forma adecuada la depiladora, por las características del equipo.

El incremento de la contaminación por *Salmonella* spp. que se produce en las canales tras su paso por la depiladora, fue descrito por otros autores que detectaron un incremento de positividad en las canales del 1 al 7% en las canales al pasar por la depiladora. Este hecho fue atribuido a la materia orgánica acumulada en las palas o flageladoras (Pearce *et al.*, 2004). La contaminación en la etapa de depilado se puede producir por la salida de material fecal por el ano de los animales durante este proceso. Por consiguiente, una adecuada limpieza y desinfección es necesaria para reducir la carga bacteriana de las superficies.

En resumen, una correcta aplicación de medidas higiénicas junto con unas buenas prácticas de manipulación durante el proceso de sacrificio, no pueden impedir que se introduzca en la cadena *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. proveniente de cerdos infectados en granja o durante el transporte, pero sí pueden prevenir o reducir parte de la contaminación de las canales intentando controlar los efectos de la contaminación cruzada (Da Silva *et al.*, 2012). Sin embargo, en nuestro estudio, aunque se han encontrado tasas de positividad altas para ambos patógenos en equipos, útiles, e indumentaria de los operarios, estas no influyeron en la contaminación final de las canales por *Salmonella* spp. o *Campylobacter* spp. ($P > 0,05$). Estos resultados probablemente son debidos a que el número de muestras sea insuficiente. No obstante, sí que se ha podido observar en este estudio que los mataderos con mejores condiciones higiénicas y que sacrificaban un número reducido de animales han obtenido las canales menos contaminadas. Del mismo modo también se ha observado que en algunos mataderos de mayor tamaño, pese a tener unas buenas condiciones higiénicas, los resultados de contaminación de las canales no siempre han sido buenos, esto podría ser debido a que cada día se sacrifican un gran número de animales que pudieran estar introduciendo *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. de manera continua en la línea de sacrificio.

Por lo tanto, el cumplimiento de las medidas higiénicas durante el faenado de la canal y la desinfección de los cuchillos en los esterilizadores durante el proceso son necesarias para prevenir la contaminación durante la actividad.

8.2.4. Detección de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. en canales.

En un estudio realizado en Dinamarca se llegó a la conclusión que la positividad de las canales a *Salmonella* spp. estaba influenciada por el estatus serológico de los animales sacrificados durante el día de la toma de muestras y el día de la semana. Se calculó que, de media, la prevalencia individual de las canales se podía mantener por debajo del 1%, si se mantenía el número de animales seropositivos que entraban cada día al matadero por debajo de 50, independientemente del tamaño del matadero. Las medidas higiénicas tenían que ser implantadas de manera estricta en todos los mataderos, para reducir todavía la más la prevalencia de *Salmonella* spp. en las canales (Baptista *et al.*, 2010).

Berends *et al.*, (1997) en su estudio realizado en mataderos de Holanda llegó a la conclusión de que había una gran correlación entre el número de animales vivos que eran portadores de *Salmonella* spp. en sus heces y el número de canales contaminadas al final de la línea de sacrificio en matadero.

Una de las principales fuentes de contaminación de las canales es a causa de manipulaciones incorrectas durante la fase de evisceración. El derramamiento de contenido intestinal por roturas durante la fase de evisceración, es una de las mayores fuentes de contaminación de las canales (Hald *et al.*, 2003; Duggan *et al.*, 2010; Pearce *et al.*, 2004; Berends *et al.*, 1997). Otras actividades realizadas tras el eviscerado como el esquinado, la retirada de manteca, recortes, eliminación de ganglios y amígdalas etc., donde se utilizan cuchillos y las manos de los manipuladores, constituyen una fuente de contaminación (Vieira-Pinto *et al.*, 2006, Argüello *et al.*, 2012, Botteldoorn *et al.*, 2003). Argüello considera que el 50% de las contaminaciones de las canales son debidas a contaminaciones cruzadas (Argüello *et al.*, 2012). Marier indica en su estudio que existe una asociación positiva entre el aislamiento de *Salmonella* spp. en las canales y la presencia de *Salmonella* spp. en el contenido cecal del mismo cerdo (Marier *et al.*, 2014).

Unas buenas prácticas durante la manipulación, desde la fase de eviscerado hasta el final de la línea pueden disminuir el riesgo de contaminación de las canales. La EFSA en su estudio de prevalencia de *Salmonella* spp. en el sector porcino, demuestra que los animales positivos que llegan al matadero, representan una importante fuente de contaminación para sus propias canales y para las otras canales en el proceso del matadero (EFSA 2008a, EFSA 2008b). Estudios realizados en otras especies como las aves, concluyen que el control del estado sanitario es necesario para evitar la contaminación cruzada durante el proceso (McCrea *et al.*, 2006). Las diferencias observadas entre los distintos mataderos en nuestro estudio, indican que las actividades durante el faenado pueden afectar al estado final de las canales. Las actuaciones en el matadero, sobre todo en la fase del eviscerado y fases posteriores, disminuyendo la posibilidad de contaminación de las canales, se consideran las medidas más efectivas para reducir los casos de salmonelosis en el hombre por consumo de carne de cerdo.

No obstante, la intervención a nivel de granja combinada con la actuación en mataderos incrementaría todavía más la efectividad en el control de este patógeno, sobre todo en aquellos países donde existe una alta prevalencia de *Salmonella* spp. en cerdo. (Snary *et al.*, 2016; Hill *et al.*, 2016).

A la hora de realizar comparaciones entre distintos estudios de contaminación de canales por *Salmonella* spp., se tiene que tener precaución, ya que los datos de prevalencia estimados están condicionados por los procedimientos de aislamiento utilizados y especialmente por el procedimiento y localización de toma de muestras (Argüello *et al.*, 2012). La prevalencia detectada en las canales varía dependiendo del punto de la línea de sacrificio donde se toma la muestra (Pearce *et al.*, 2004).

La toma de muestras, normalmente se realiza al finalizar el proceso, previamente al enfriamiento de las canales. En nuestro estudio las muestras se tomaron en dos momentos, al finalizar la línea de sacrificio (antes de la refrigeración) y tras una hora de refrigeración. Algunos autores, no indican en sus estudios el momento en que se han tomado las muestras, lo que puede influir en el momento de comparar resultados.

Los resultados de positividad obtenidos para ambos patógenos en las muestras de canales previamente a su enfriado en nuestro estudio son de un 40,5%, lo que se puede considerar una positividad bastante elevada. Estos resultados son mayores a los obtenidos con los del estudio realizado por Niemann en Alemania, sobre la prevalencia simultánea de *Salmonella* entérica, *Campylobacter* spp. y *Yersinia enterocolitica* en matadero, donde el 20% de las muestras obtenidas de las canales fueron positivas al menos a uno de los patógenos (Niemann *et al.*, 2016).

Respecto a la positividad en las canales para *Salmonella* spp., esta es de un 32,4%, bastante similar a la obtenida por otros autores como el 39,7% (Argüello *et al.*, 2012), el 37% (Botteldoorn *et al.*, 2003) y el 40% (Mac Dowell *et al.*, 2007); se puede observar que es una positividad mayor a los estudios de la EFSA (EFSA 2008a). Otros autores han aportado datos de prevalencias un poco inferiores como el 13% de Oosterom *et al.* (1985), el 16% de Gomes Neves *et al.* (2012), el 15% de Marier *et al.* (2014), el 14,1% de Piras *et al.* (2011) o el 10,3% de Käsbohrer *et al.* (2000).

Por último, otros estudios presentan datos de prevalencia muy bajos comparados con los datos obtenidos en nuestro estudio como el 7% de Pearce *et al.* (2004), el 5% Bolton *et al.* (2013), el 5,3% de Hald *et al.* (2003) y el 0% de Lindblad *et al.* (2007). Por lo general los países del norte de Europa presentan tasas de prevalencia muy bajas en canales y los países del sur más elevadas.

En referencia a los resultados obtenidos sobre la presencia de *Campylobacter* spp. en las canales, la positividad en el presente estudio fue de un 48,6%, muy superior a la obtenida en otro estudio como el llevado a cabo en Holanda con el 9% de positividad Oosterom *et al.* (1985), pero muy inferior a la obtenida en un estudio en Portugal con un 86% de positividad (Morais *et al.*, 2009).

La positividad observada en otros estudios se encontraba entre el 10% y el 30%, así observamos datos del 13% en Bulgaria (Maramski 2012), el 18,9% Brasil (Szygalski *et al.*, 2011), el 29,9% Polonia (Wieczorek y Osek., 2013) o el 38,84% de Ghimire en Nepal (Ghimire *et al.*, 2014). Por el contrario, otros autores encontraron valores muy inferiores, Ghafir *et al.* (2007) obtienen una positividad de un 30% en pollo, pero de un 5% como máximo en canales de cerdo y terneros, o el 1% de otro estudio realizado en Suecia (Lindblad *et al.*, 2007). En el estudio de Steinhauserova *et al.*, (2005) se pudo observar que la prevalencia fue disminuyendo en tres años consecutivos, encontrando el primer año una positividad en las canales del 18%, el segundo un 2% y el último año 0% (Steinhauserova *et al.*, 2005).

En cuanto a las especies predominantes en las muestras obtenidas en las canales antes de su paso por el frío en nuestro estudio, *Campylobacter* spp. con un 62% ha sido identificada en mayor proporción, mientras que *Campylobacter jejuni*, ha sido identificada en un 38% de las muestras. Del mismo modo que sucedía para el caso de las muestras fecales estos resultados, podrían coincidir con los de otros autores que también obtuvieron mayor proporción de muestras positivas a *Campylobacter coli* que a *Campylobacter jejuni*, como el 76% de *C. coli* y el 24% de *C. jejuni* de Ghimire en Nepal (Ghimire *et al.*, 2014), el 96,83% de *C. coli* y el 2,17% de *C. jejuni* de Morais en Portugal (Morais *et al.*, 2009), o el 77,4% de *C.coli* de Wieczorek en Polonia (Wieczorek y Osek., 2013), pero a día de hoy con los datos que disponemos tan sólo podemos afirmar que el número de muestras identificadas como *Campylobacter* spp. son superiores a las identificadas como *Campylobacter jejuni*.

En varios estudios realizados para *Salmonella* spp. las canales han sido también muestreadas tras haber pasado por el frío (Chang *et al.*, 2003; Argüello *et al.*, 2012; Botteldoorn *et al.*, 2003). Tras la etapa de enfriamiento se espera que la prevalencia disminuya, pero existen muchas dificultades para poder comparar los datos con otros estudios, ya que las condiciones en que se efectuaron las tomas de muestras (por ejemplo, el tiempo transcurrido o la temperatura a la que se encontraban las cámaras) no se indican en algunos de los estudios.

Desde el punto de vista de la Salud Pública, la prevalencia en canales después del enfriado, constituye un indicador importante de la posible exposición a los patógenos, ya que refleja la contaminación de la carne de cerdo cuando sale del matadero. En nuestro estudio el tanto por cien de positividad para ambos patógenos disminuye con el enfriamiento, pasando de un 40,5% a un 17,1%. Por lo que respecta a *Salmonella* spp., se observa que se produce una disminución desde el 32,4% hasta el 7,6% en una hora. Este resultado está de acuerdo con otros autores que pasan de un 45,8% a un 10,8% (Argüello *et al.*, 2012), y de un 13% a un 5,7% (Oosterroom *et al.*, 1985). Sin embargo, cuando las prevalencias son muy bajas, la disminución del patógeno es más complicada. Hay estudios en Dinamarca que demuestran que desde 2001 la prevalencia tras el enfriado permanece entre un 1,5% y un 1% (Baptista *et al.*, 2011).

En cuanto a los resultados obtenidos para *Campylobacter* spp., la disminución en la positividad de las canales tras la refrigeración ha sido mucho menor que para *Salmonella* spp., pasando de un 48,6% al 26,7% de positividad. Aunque se trata de una reducción estadísticamente significativa se considera un valor muy superior al obtenido en otros estudios, así Oosterroom *et al.* (1985) detectaron una disminución de un 9% a un 0%. Otros autores coinciden también con esta baja prevalencia tras la refrigeración de las canales (Nesbakken *et al.*, 2003, Pearce *et al.*, 2003). Wehebrink no detecta presencia de *Campylobacter* spp. después de 12 horas de refrigeración y considera que el uso de técnicas correctas junto con una higiene adecuada en matadero es suficiente para disminuir el riesgo, ya que sólo ha detectado esporádicamente presencia de *Campylobacter* spp. en muestras de carne cruda de cerdo (Wehebrink *et al.*, 2008).

Maramski (2012) indica en su estudio que hay poca contaminación de las canales tras el proceso de refrigeración, estimando la positividad de las canales antes de la refrigeración en un 13%, y manifiesta de acuerdo con Wehebrink, que hay una reducción posterior de la contaminación al final del proceso tras el enfriado que hace que no exista riesgo de transmisión por alimentos. Probablemente la alta positividad obtenida en este estudio, comparado con otros autores, se deba a que las muestras se tomaron una hora después de que finalizara el proceso, y en ocasiones, según las características del matadero visitado, las canales permanecían un tiempo en oreo, antes de pasar a cámaras, con lo que el tiempo que estuvieron en contacto con el frío fue mucho menor. Así, por ejemplo, Pearce *et al.* (2003) detectaron un 0% de positividad a *Campylobacter* spp. en las canales tras haber pasado toda la noche a 2°C en enfriamiento, pero otros autores no informan sobre el tiempo transcurrido.

Como se ha comentado anteriormente estos datos varían mucho dependiendo de determinados factores, como pueden ser los distintos procesos y métodos de enfriado de los mataderos. Así estudios anteriores (Gill *et al.*, 2000; Sheridan *et al.*, 2000) han demostrado que la velocidad de enfriado de las canales, está influida por los siguientes factores: las características de las propias canales (peso, grasa de cobertura, temperatura a la que pasan a enfriado, etc.); factores del proceso y de las cámaras (temperatura a la que se encuentran las cámaras, velocidad del aire, humedad relativa, número de canales, separación entre canales etc.).

9. CONCLUSIONES.

9. CONCLUSIONES.

De los resultados obtenidos en el estudio se pueden extraer las siguientes conclusiones:

PRIMERA. La elaboración e interpretación de las encuestas de este estudio nos ha permitido conocer la situación de los mataderos donde se sacrifica ganado porcino en la Comunidad Valenciana. En relación a las condiciones de instalaciones y equipos se ha podido comprobar que existe una gran diferencia entre los mataderos de gran tamaño y los de pequeño y mediano tamaño. Por lo que respecta al mantenimiento de los mismos se observa un alto grado de deterioro y envejecimiento en los mataderos de pequeño y mediano tamaño. Por otro lado, no ocurre lo mismo con las condiciones higiénicas, donde independientemente del tamaño del matadero y del estado de sus instalaciones y equipos, se han observado distintos grados de limpieza. En cuanto a la cualificación del personal también se han encontrado grandes diferencias mostrando mayor cualificación los empleados de los mataderos de gran tamaño, seguidos de los de menor tamaño y por último se han detectado muchas deficiencias en los mataderos de mediano tamaño.

Independientemente del tamaño del matadero, de las condiciones higiénicas y de mantenimiento de las instalaciones y los equipos de trabajo, y de la cualificación del personal, los niveles de contaminación por *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. a lo largo del proceso han sido elevados.

SEGUNDA. Se ha podido constatar que los cerdos que entraban en la cadena de sacrificio, presentaban altas tasas de positividad para *Salmonella* spp y *Campylobacter* spp.

TERCERA. Las muestras tomadas en las superficies del matadero (equipos y útiles) que en algún momento del proceso de faenado pudieron entrar en contacto con las canales, estaban contaminadas con *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp., lo que indica la posibilidad de que se produzcan contaminaciones cruzadas. Sin embargo, ninguno de los dos patógenos estaba presente en el agua de escaldado.

Desde el inicio del proceso hasta el producto final la presencia de ambos patógenos ha sido elevada, no obstante, se ha podido constatar que la etapa de enfriado disminuye la positividad en las canales, sin embargo, mientras que para *Salmonella* spp. se reduce significativamente la prevalencia, en el caso de *Campylobacter* spp. el descenso es mucho menor de lo esperado.

10. BIBLIOGRAFÍA.

- Abenía, K.** (2006). «La sanidad como limitante del comercio exterior. Presentación en VIC Porc '06. Retos actuales del sector porcino español». Disponible en: <http://www.agro-alimentarias.coop/ficheros/doc/01650.pdf>.
- Abubakar, I., Irvine, L., Aldus, C. F., Wyatt, G. M., Fordham, R., Schelenz, S., Shepstone, L., Howe, A., Peck, M., Hunter, P. R.** (2007). «A systematic review of the clinical, public health and cost-effectiveness of rapid diagnostic tests for the detection and identification of bacterial intestinal pathogens in faeces and food». *Health Technology Assessment* 11 (36).
- Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria. ACSA** (2005). «Guía para el diseño y la aplicación de un Sistema de APPCC». *Departamento de Salud de la Generalitat de Catalunya, Barcelona*.
- Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. AESAN** (2012). «Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) con relación a las medidas de control para reducir la presencia de *Campylobacter* spp. en carne fresca de aves (pollo)». *Revista del comité científico* 16, pp.21-55.
- Aguilar, C.** (2014). «Caracterización de la interacción patógeno-hospedador. Aplicación al estudio de la respuesta de células epiteliales intestinales humanas y porcinas frente a la infección por *Campylobacter*». *Tesis Doctoral. Córdoba. Universidad de Córdoba*.
- Alexandrina, A., Botus, D.** (2008). «The contamination of pork meat with campylobacter germs during the technological flow». *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine* 65(1).
- Allbiz,** (2016). «Empresa de venta de carne porcina». <http://saragossa-ar.all.biz/canales-de-cerdo-g22933#.V7tqZiiLTIU>
- Álvarez-Ordóñez, A., Halisch, J., Prieto, M.** (2011a). «Changes in Fourier transform infrared spectra of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Enteritidis after adaptation to stressful growth conditions». *International Journal of Food Microbiology*, 142: 97-105.
- Álvarez-Ordóñez, A., Begley, M., Prieto, M., Messens, W., López, M., Bernardo, A., Hill, C.** (2011b). «*Salmonella* spp. survival strategies within the host gastrointestinal tract». *Microbiology*, 157: 3268-3281.
- Argüello, H., Carvajal, A., Collazos, J. A., García-Feliz C., Rubio P.** (2012). «Prevalence and serovars of *Salmonella enterica* on pig carcasses, slaughtered pigs and the environment of four Spanish slaughterhouses». *Food Research International*, 45:905–912.
- Argüello, H.** (2013a). «Salmonellosis porcina en España: factores de riesgo en reproductores, estrategias de control en cerdos de cebo y la importancia del sacrificio». *Tesis doctoral. Universidad de León*.
- Argüello, H., Álvarez-Ordón, A., Carvajal, A., Rubio, P., Prieto, M.** (2013b). «Role of Slaughtering in *Salmonella* Spreading and Control in Pork Production». *Journal of Food Protection*, Vol. 76, No. 5, 2013, Pages 899–911.
- Argüello, H., Carvajal, A., Naharro G., Arcos M., Rodicio M. R., Martín M. C., and Rubio P.** (2013c). «Sero- and genotyping of *Salmonella* in slaughter pigs, from farm to cutting plant, with a focus on the slaughter process». *International. Journal of Food Microbiology*, 161:44–52.

- Argüello, H., Carvajal, A., Álvarez-Ordóñez, A., Jaramillo-Torres, H. A., Rubio, P.** (2014). «Effect of logistic slaughter on Salmonella contamination on pig carcasses». *Food Research International*, 55, 77-82.
- 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.
- Avrain, L., Allain, L., Vernozy Rozand, C., Kempf, I.** (2003). «Disinfectant susceptibility testing of avian and swine Campylobacter isolates by a filtration method». *Veterinary Microbiology*, 96: 35-40.
- Bailey, J. S., Cox, N. A.** (1992). Universal pre-enrichment broth for the simultaneous detection of Salmonella and Listeria in foods. *Journal of Food Protection*, 55: 256-259.
- Baird-Parker, (1991).** Foodborne salmonellosis. En: *Lancet Review of foodborne illness*. Edward Arnold. London, United Kingdom.
- Baptista, F. M., Dahl, J., Nielsen, L. R.** (2010). «Factors influencing Salmonella carcass prevalence in Danish pig abattoirs». *Preventive Veterinary Medicine*, 95:231-238.
- Baptista, F. M., Halasa, T., Alban, L., Nielsen, L. R.** (2011). «Modelling food safety and economic consequences of surveillance and control strategies for Salmonella in pigs and pork». *Epidemiol Infect.* May;139(5): 754-64.
- Baylis, C. L., MacPhee, S. A., Martin, K. W., Humphrey, T. J., Betts, R. P.** (2000). «Comparison of three enrichment media for the isolation of Campylobacter spp. from foods». *Journal of Applied Microbiology*, 89: 884-891.
- Beloil, P. A., Chauvin, C., Proux, K., Rose, N., Queguiner, S., Eveno, E., Houdayer, C., Rose, V., Fravallo, P., Madec, F.** (2003). «Longitudinal serological responses to Salmonella enterica of growing pigs in a subclinically infected herd». *Preventive Veterinary Medicine*, 60: 207-22.
- Berends, B. R.; Urlings, H. A. P.; Snijders, J. M. A., Van Knapen, F.** (1996). «Identification and quantification of risk factors animal management and transport regarding in Salmonella spp. in pigs». *International Journal of Food Microbiology*, 30: 37-53.
- Berends, B. R., Van Knapen F., Snijders J. M., Mossel D. A..** (1997). «Identification and quantification of risk factors regarding Salmonella spp. on pork carcasses». *International Journal of Food Microbiology*, 36:199– 206. 16.
- Berends, B. R., Van Knapen, F., Mossel, D. A., Burt, S. A., Snijders, J. M.** (1998). «Impact on human health of Salmonella spp. on pork in The Netherlands and the anticipated effects of some currently proposed control strategies». *International Journal of Food Microbiology*, 44:219-229.
- Bokken, G. C., Corbee, R. J., van Knapen, F., Bergwerff, A. A.** (2003). «Immunochemical detection of Salmonella group B, D and E using an optical surface plasmon resonance biosensor». *FEMS Microbiol Lett.* 222: 75-82.

- Bolton, F. J.**, (2001). «Methods for isolation of *Campylobacter* from humans, animals, food and water. The increasing incidence of campylobacteriosis in humans. Report and proceedings of a WHO consultation of experts». *Geneva: World Health Organization*, 87-94.
- Bolton, D. J., Pearce R. A., Sheridan J. J., Blair I. S., McDowell D. A., Harrington D.** (2002). «Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems». *Journal Applied Microbiology*, 92:893–902.
- Bolton, D. J., Pearce R., Sheridan J. J., McDowell D. A., Blair I. S.** (2003). «Decontamination of pork carcasses during scalding and the prevention of *Salmonella* cross-contamination». *Journal Applied Microbiology*, 94:1036–1042. 19.
- Bolton, D. J., Ivory C., McDowell D.** (2013). «A study of *Salmonella* in pigs from birth to carcass; serotypes, genotypes, antibiotic resistance and virulence profiles». *International Journal of Food Microbiology*, 160:298–303. 18.
- Bonardi, S., Alpigiani, I., Bruini, I., Barilli, E., Brindani, F., Morganti, M., Cavallini, P., Bolzoni, L., Pongolini, S.** (2016). «Detection of *Salmonella enterica* in pigs at slaughter and comparison with human isolates in Italy». *International Journal of Food Microbiology*. 2016 Feb 2;218:44-50. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.11.005. Epub 2015 Nov 14.
- Borch, E., Nesbakken T., Christensen H.** (1996). «Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria». *International Journal of Food Microbiology*, 30:9–25.
- Botteldoorn, N., Heyndrickx M., Rijpens N., Grijspeerdt K., Herman L.** (2003). «*Salmonella* on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse». *Journal Applied Microbiology*, 95:891–903. 24.
- Botteldoorn, N., Herman L., Rijpens N., Heyndrickx M.** (2004). «Phenotypic and molecular typing of *Salmonella* strains reveals different contamination sources in two commercial pig slaughter- houses». *Applied Environmental Microbiology*, 70:5305–5314.
- Boughton, C., Egan J., Kelly G., Markey B., Leonard N.** (2007). «Rapid infection of pigs following exposure to environments contaminated with different levels of *Salmonella Typhimurium*». *Foodborne Pathog. Dis.*, 4:33–40.
- Brenner, F. W., Villar, R.G., Angulo, F.J., Tauxe, R., Swaminathan, B.** (2000). «*Salmonella* nomenclature». *J. Clin. Microbiol.*, 38: 2465-2467.
- Bustin, S. A.** (2002). «Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems». *J. Mol. Endocrinol.*, 29: 23-39.
- Buswell, C. M., Herlihy, Y. M., Lawrence, L. M., McGiggan, J. T. M., Marsh, P. D., Keevil, C. W., Leach, S. A.** (1998). «Extended survival and persistence of *Campylobacter* spp. in water and aquatic biofilms and their detection by immunofluorescent-antibody and-rRNA staining». *Applied and Environmental Microbiology* 64, 733-741.
- Butzler, J.P.** (2004). «*Campylobacter*, from obscurity to celebrity». *Clinical Microbiology and Infection* 10, 868-876.

- Cai, Y., Tao, J., Jiao, Y., Fei, X., Zhou, L., Wang, Y., Zheng, H., Pan, Z., Jiao, X.** (2016). «Phenotypic characteristics and genotypic correlation between Salmonella isolates from a slaughterhouse and retail markets in Yangzhou, China». *International Journal of Food Microbiology*. 2016 Apr 2;222:56-64. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.020. Epub 2016 Jan 29.
- Cawthraw, S. A., Feldman, R. A., Sayers, A. R., Newell, D. G.** (2002). «Long-term antibody responses following human infection with *Campylobacter jejuni*». *Clinical and Experimental Immunology*, 130:101-106.
- CE** (2000). Comisión de las Comunidades Europeas. *Libro Blanco sobre Seguridad Alimentaria*. Bruselas, 12.1.2000 COM (1999) 719 final.
- Chang, V. P., Mills E. W., and Cutter C. N.** (2003). «Reduction of bacteria on pork carcasses associated with chilling method». *Journal of Food Protection*, 66:1019–1024.
- Chow, E. Y., Wu, J. T., Jauhbo, E. S., Heegaard, P. M., Nilsson, E., Harris, I. T., Manninen, K.** (2004). «Evaluation of a covalent mix-enzyme linked immunosorbent assay for screening of Salmonella antibodies in pig serum». *Canadian Journal of Veterinary Research*, 68: 134-13.
- 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». *Applied and Environmental Microbiology*, 60:2069-2075.
- Collazos, J. A.** (2008). «Aportaciones al diagnóstico y control de la salmonelosis porcina». *Tesis Doctoral*. Universidad de León.
- Cox, J.** (1999). «Salmonella». *Encyclopedia of Food Microbiology*. AcademicPress, pp. 1928-1976.
- Cox, N. A., Berrang, M. E., Stern, N. J., Musgrove, M. T.** (2001). «Difficulty in recovering inoculated *Campylobacter jejuni* from dry poultry-associated samples». *Journal of Food Protection*, 64: 252-254.
- Crushell, E., Harty, S., Sharif, F., Bourke, B.** (2004). «Enteric *Campylobacter*: purging its secrets». *Pediatric Research*, 55: 3-12 .
- Czerny, C. P., Osterkorn, K., Wittkowski, G., Huber, M.** (2001). «Meat juice ELISA for determination of the Salmonella incidence in slaughter pigs in Bavaria». *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, 114: 35-39.
- Dasti, J. I., Tareen, A. M., Lugert, R., Zautner, A. E., Groß, U.,** (2010). «*Campylobacter jejuni*: a brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms». *International Journal of Medical Microbiology*, 300: 205-211.
- D'Aoust, J. Y.** (1981). «Update on preenrichment and selective enrichment conditions for detection of Salmonella in foods». *Journal of Food Protection*, 44: 369-374.
- D'Aoust, J. Y., Oaley, E., Sewell, A. M.** (1990). «Performance of the micraplate BacTrac ELISA technique for detection of food-borne Salmonella». *Journal of Food Protection*, 53: 841- 845.

- D'Aoust, J. Y.** (2000). «Especies de Salmonella». *Microbiología de los alimentos, Fundamentos y Fronteras*. Editorial Acribia, SA. Zaragoza (España). 133-163.
- Da Silva, L. E., Dias, V., Ferronato, A., Guerra, P., Berno, L., Triches, N., Kich, J. D., Corbellini, L. G., Cardoso, M.** (2012). «Longitudinal dissemination of Salmonella enterica clonal groups through the slaughter process of Salmonella-positive pig batches». *Journal of Food Protection*. 2012 Sep;75(9):1580-8. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-11-515.
- Dawe, D. L., Troutt, H. F.** (1976). «Treatment of experimentally induced salmonellosis in weanling pigs with trimethoprim and sulfadiazine», p. M4. *In Proceedings of the 4th International Congress of the Pig Veterinary Society, Ames, Iowa*.
- De Busser, E. V., Maes D., Houf K., Dewulf J., Imberechts H., Bertrand S., De Zutter L.** (2011). «Detection and characterization of Salmonella in lairage, on pig carcasses and intestines in five slaughterhouses». *International Journal of Food Microbiology*, 145:279–286. 31.
- Debruyne, L., Gevers, D., Vandamme, P.** (2008). «Taxonomy of the family Campylobacteraceae». *Campylobacter (3rd Edition)*, pp. 3-25. Washington D.C.: ASM Press.
- Decisión** de la Comisión de 19 de julio de 2007 relativa a la ayuda financiera de la Comunidad a un estudio que ha de realizarse en los Estados miembros sobre la prevalencia y la resistencia a los antibióticos del género *Campylobacter* en manadas de pollos de engorde y sobre la prevalencia del género *Campylobacter* y el género *Salmonella* en las canales de pollos de engorde. (Diario Oficial de La Unión Europea, L 190/25 de 21.07.2007).
- Decisión** de Ejecución de la Comisión de 12 de noviembre de 2013 sobre el seguimiento y la notificación de la resistencia de las bacterias zoonóticas y comensales a los antibióticos [notificada con el número C (2013) 7145] (Diario Oficial de la Unión Europea L 303/26 14.11.2013).
- Dekeyser, P., Gossuin-Detrain, M., Butzler, J. P., Sternon, J.** (1972). «Acute enteritis due to a related vibrio: first positive stool cultures». *The Journal of Infectious Diseases*, 125: 390-392.
- Dibb-Fuller, M. P., Allen-Vercoe, E., Thorns, C. J., Woodward, M. J.** (1999). «Fimbriae and flagella mediated association with and invasion of cultured epithelial cells by *Salmonella* Enteritidis». *Microbiology*, 145: 1023-1031.
- Dirección General de Salud Pública. DGSP.** Servicio de Vigilancia y Control Epidemiológico (2015). «Situaciones epidémicas y brotes». *Vigilancia epidemiológica. Informe. Comunitat Valenciana año 2014*.
- 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 L 62 de 15.3.1993).
- 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, L 325/31 de 12.12.2003).

- Droffner, M. L., Yamamoto, N.** (1992). «Role of nalidixic acid in isolation of *Salmonella typhimurium* strains capable of growth at 48 degrees». *Curr. Microbiol*, 25: 257-260.
- Drumo, R., Pesciaroli, M., Ruggeri, J., Tarantino, M., Chirullo, B., Pistoia, C., Petrucci, P., Martinelli, N., Moscati, L., Manuali, E., Pavone, S., Picciolini, M., Ammendola, S., Gabai, G., Battistoni, A., Pezzotti, G., Alborali, G. L., Napolioni, V., Pasquali, P., Magistrali, C. F.** (2016). «*Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Exploits Inflammation to Modify Swine Intestinal Microbiota». *Front Cell Infect Microbiol*. 2016 Jan 22;5:106. doi: 10.3389/fcimb.2015.00106. eCollection 2015.
- Duggan, S. J., Mannion C., Prendergast D. M., Leonard N., Fanning S., Gonzales-Barron U., Egan J., Butler F., Duffy G.** (2010). «Tracking the *Salmonella* status of pigs and pork from lairage through the slaughter process in the Republic of Ireland». *Journal of Food Protection*, 73:2148–2160.
- Eckmann, L., Rudolf, M. T., Ptasznik, A., Schultz, C., Jiang, T., Wolfson, N., Tsien, R., Fierer, J., Shears, S. B., Kagnoff, M. F., Traynor-Kaplan, A. E.** (1997). «D-myoinositol 1,4,5,6-tetrakisphosphate produced in human intestinal epithelial cells in response to *Salmonella* invasion inhibits phosphoinositide 3-kinase signaling pathways». *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94: 14456-14460.
- EFSA** (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`». *EFSA Journal*. 341:1-131. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/341>
- EFSA** (2008a). «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, 2006-2071 Part A: *Salmonella* prevalence estimates European Food Safety Authority, 2008». *EFSA Journal* 135, 1-111. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/135r>
- EFSA** (2008b). «Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs, in the EU, 2006-2007 Part B: factors associated with *Salmonella* infection in lymph nodes, *Salmonella* surface contamination of carcasses, and the distribution of *Salmonella* serovars». Report of the *Task Force on Zoonoses The EFSA Journal/ EFSA Scientific Report* (2008) 206, 1-111. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/206r>
- EFSA** (2009a). «Report on the availability of molecular typing methods for *Salmonella*, *Campylobacter*, verotoxigenic *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* isolates from food, animals and feedingstuffs in European Union Member States (and in some other reporting countries)». *EFSA Journal*, 272: 1-52. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/272r>
- EFSA** (2009b). «Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in holdings with breeding pigs in the EU, 2008 1 Part A: *Salmonella* prevalence estimates». *EFSA Journal* 2009, 7(12):1377. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1377>
- EFSA** (2010a). «Scientific Opinion on a Quantitative Microbiological Risk Assessment of *Salmonella* in slaughter and breeder pigs. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), This scientific output, published on 4 August 2011, replaces the earlier version published on 19 April 2010». *EFSA Journal* 2010, 8(4):1547. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1547>

- EFSA** (2010b). «Scientific Opinion on monitoring and assessment of the public health risk of »Salmonella Typhimurium-like« strains». *EFSA Journal*, 8,(10),1826.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2010.1826/abstract>
- EFSA** (2010c). «Quantitative Microbiological Risk Assessment on Salmonella in Slaughter and Breeder pigs»: Final Report SCIENTIFIC REPORT submitted to EFSA. Prepared by VLA in consortium with DTU and RIVM Submitted: 30th November 2009 Revised: 9th March 2010.
<http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/46e>
- EFSA** (2011a). EFSA «Topics, Zoonotic Diseases.Food-borne zoonotic diseases. November» 2011. *European Food Safety Authority*. [online] Disponible en:
<https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/foodbornezoonoticdiseases>
- EFSA** (2011b). «Analysis of the baseline survey of Salmonella in holdings wit breeding pigs, in the EU, 2008»; Part B: «Analysis of factors potentially associated with Salmonella pen positivity». *EFSA Journal*, 9: 1-159.
- EFSA** (2012). «The European Union Summary Report Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and food-borne outbreaks in 2010». *EFSA Journal* (2012), 10(3):2597.
<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2597>
- EFSA** (2013). Spain. “Trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in humans, foodstuffs, animals and feedingstuff”. <https://www.efsa.europa.eu/en/biological-hazards-data/reports>.
- EFSA** (2014a). «The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012». *EFSA Journal* 2014, 12(2):354.
- EFSA** (2014b). Spain. “Trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in humans, foodstuffs, animals and feedingstuff”. <https://www.efsa.europa.eu/en/biological-hazards-data/reports>.
- EFSA** (2015a). «The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013». *EFSA Journal* 2015, 13(1):3991.
- EFSA** (2015b). «The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014». *EFSA Journal* 2015, 13(12):4329.
<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4329>
- Ekperigin, H. E., Nagaraja, K. V.** (1998). «Microbial food borne pathogens. Salmonella». *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 14: 17-29.
- ELIKA** (2013). Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria. «Campylobacter» 28 de Febrero de 2013.
www.elika.net.
- ELIKA** (2013). Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria. «Salmonella» 28 de Febrero de 2013.
www.elika.net.
- Ellerbroek, L. I., Lienau, J. A., Klein, G.** (2010). «Campylobacter spp. in broiler flocks at farm level and the potential for cross-contamination during slaughter». *Zoonoses and Public Health*, 57, e81-e88.

- Endtz, H. P., Ruijs, G. J., Zwinderman, A. H., Van Der Reijden, T., Biever, M., Mouton, R. P.**, (1991). «Comparison of six media, including a semisolid agar, for the isolation of various *Campylobacter* species from stool specimens». *Journal of Clinical Microbiology*, 29: 1007-1010.
- Fakruddin, M., Mannan, K. S., Andrews, S.** (2013). «Viable but nonculturable bacteria: food safety and public health perspective». *ISRN Microbiology*. 26, 2013:703813. eCollection 2013.
- FAO** (2014). «Perspectivas alimentarias». *Resúmenes de mercado*.
- FEDACOVA** (2011). «Guía de prácticas correctas de higiene en el sector de mataderos de ungulados domésticos y ratities». <http://todoguiasappcc.icoval.org/wp-content/uploads/2015/03/ungulados-cv.pdf>
- Fedorka-Cray, P.J., Whipp, S.C., Isaacson, R.E., Nord, N., Lager, K.** (1994). «Transmission of *Salmonella* Typhimurium to swine». *Veterinary Microbiology*, 41: 333-344.
- Fedorka-Cray, P. J., Kelley, L. C., Stabel, T. J., Gray, J. T., Laufer, J. A.** (1995). «Alternate routes of invasion may affect pathogenesis of *Salmonella* typhimurium in swine». *Infect. Immun*, 63: 2658-2664.
- Fedorka-Cray, P. J., Wray, C.** (2000). «*Salmonella* infections in pigs». In: Wray, C., Wray, A. (Eds.), «*Salmonella* in Domestic Animals». *CAB International, London, UK*, pp. 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.
- Fresquet, J. L.** (2002). «Daniel Elmer Salmon». www.historiadelamedicina.org/Salmon.html Instituto de Historia de la Ciencia y Documentación (Universidad de Valencia-CSIC). Mayo, 2002.
- Friedman, C. R., Hoekstra, R. M., Samuel, M., Marcus, R., Bender, J., Shiferaw, B., Reddy, S., Ahuja, S. D., Helfrick, D. L., Hardnett, F., Carter, M., Anderson, B., Tauxe, R.V.** (2004). «Emerging Infections Program FoodNet Working Group: Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States: a case-control study in FoodNet sites». *Clin. Infect. Dis.*, 38: 285-296.
- Frost, J. A., Kramer, J. M. Gillanders, S. A.** (1999). «Phage typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* and its use as an adjunct to serotyping». *Epidemiol. Infect.*, (1999), 123: 47-55.
- García, C.** (2011). «Salmonellosis porcina en España: prevalencia, factores de riesgo y resistencia antimicrobiana». *Tesis doctoral. Universidad de León*.
- Garénaux, A., Ritz M., Jugiau F., Rama F., Federighi M., de Jonge R.** (2009). «Role of oxidative stress in *C. jejuni* inactivation during freeze-thaw treatment». *Curr. Microbiol.*, 58(2):134-138.
- Garrity, G. M., Bell, J. A., Liburn, T. G.** (2004). «Taxonomic outline of Prokariotes Bergey's». *Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd Edition. Release 5.0. Springer-Verlag, pp 79-122.

- Ghafir, Y., China, B., Dierick, K., De Zutter, L., Daube, G.** (2007). «A seven-year survey of Campylobacter contamination in meat at different production stages in Belgium». *International Journal of Food Microbiology*, 116(1):111-20.
- Ghimire, L., Singh, D. K., Basnet, H. B., Bhattarai, R. K., Dhakal, S., Sharma, B.** (2014). «Prevalence, antibiogram and risk factors of thermophilic Campylobacter spp. in dressed porcine carcass of Chitwan, Nepal». *BMC Microbiol.* 2014 Apr 5;14:85. doi: 10.1186/1471-2180-14-85.
- Gill, C. O., Dussault, F., Holley, R. A., Houde, A., Jones, T., Rheault, N., Rosales, A., Quessy, S.** (2000). «Evaluation of the hygienic performances of the processes for cleaning, dressing, and cooling pig carcasses at eight packing plants». *International Journal of Food Microbiology*, 58: 65 – 72.
- Ginocchio, C. C., Olmsted, S. B., Wells, C. L., Galán, J. E.** (1994). «Contact with epithelial cells induces the formation of surface appendages on Salmonella typhimurium». *Cell*, 76: 717-724.
- Giovannacci, I., Queguiner S., Ragimbeau C., Salvat G., Vendevre J. L., Carlier V., Ermel G.** (2001). «Tracing of Salmonella spp. in two pork slaughter and cutting plants using serotyping and macrorestriction genotyping». *Journal Applied Microbiology*, 90: 131–147. J. 135: 1–111. 37.
- Gomes-Neves, E., Antunes P., Tavares A., Themudo P., Cardoso M. F., Gärtner F., Costa J. M., Peixe L.** (2012). «Salmonella cross-contamination in swine abattoirs in Portugal: carcasses, meat and meat handlers». *International Journal of Food Microbiology*, 157: 82–87.
- González, S.** (2014). «Contamination of Salmonella and Campylobacter during the broiler slaughter and in chicken fillet meat packaged under modified atmospheres». *Tesis Doctoral. Valencia. Universidad CEU Cardenal Herrera.*
- González, M., Lainez, M., Vega, S., Ingesa-Capaccioni, S., Marco-Jimenez, F., Marin, C.** (2015). «Sources for Salmonella Contamination During Pig Production in Eastern Spain. Journal of Animal and Veterinary Sciences» 2015; 2(5): 37-42. Published online August 10, 2015 (<http://www.openscienceonline.com/journal/javs>).
- Gorkiewicz, G., Feierl, G., Schober, C., Dieber, F., Köfer, J., Zechner, R., Zechner, E. L.,** (2003). «Species-specific identification of Campylobacters by partial 16S rRNA gene sequencing». *Journal of Clinical Microbiology*, 41: 2537-2546.
- Gray, J. T., Fedorka-Cray, P. J., Stabel, T. J., Kramer, T. T.** (1996). «Natural transmission of Salmonella choleraesuis in swine». *Applied Environmental Microbiology*, 62: 141-146.
- Grimont, P. A. D., Weill, F.** (2007). «Antigenic Formulae of the Salmonella serovars». 9th ed Paris: *World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella, Institut Pasteur.*
- Gruntar, I., Biasizzo, M. Kusar, D. Pate, M. and Gcepek, M.** (2005). «Campylobacter jejuni contamination of broiler carcasses: population dynamics and genetic profiles at slaughterhouse level». *Food Microbiology* 2015, 50: 97-101.

- Guevremont, E., Higgins, R., Quessy, S.** (2004): «Characterization of *Campylobacter* isolates recovered from clinically healthy pigs and from sporadic cases of *Campylobacteriosis* in humans». *Journal of Food Protection*, 67: 228–234.
- Gunther, N. W., Chen, C.** (2009). «The biofilm forming potential of bacterial species in the genus *Campylobacter*». *Food Microbiology*, 26: 44-51.
- Gutzmann, F., Layton, H., Simkins, K., Jarolmen, H.** (1976). «Influence of antibiotic-supplemented feed on occurrence and persistence of *Salmonella* Typhimurium in experimentally infected swine». *American Journal Veterinary Research*, 37(6): 649-655.
- Hald, T., Wingstrand A., Swanenburg M., von Altröck A., Thorberg B. M.** (2003). «The occurrence and epidemiology of *Salmonella* in European pig slaughterhouses». *Epidemiol. Infect.*, 131:1187– 1203.
- Harvey, R. B., Droleskey, R. E., Hume, M. E., Anderson, R. C., Genovese, K. J., Andrews, K., Nisbet, D. J.** (2002). «In vitro inhibition of *Salmonella enterica* serovars Choleraesuis and Typhimurium, *Escherichia coli* F-18, and *Escherichia coli* O157:H7 by a porcine continuous-flow competitive exclusion culture». *Current Microbiology*, 45: 226-229.
- Harvey, R. B., Young, C. R., Ziprin, R. L., Hume, M. E., Genovese, K. J.** (1999). «Prevalence of *Campylobacter* spp isolated from the intestinal tract of pigs raised in an integrated swine production system». *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 215, (11): 1601-1604.
- Hendrixson, D. R., Akerley, B. J., DiRita, V. J.** (2001). «Transposon mutagenesis of *Campylobacter jejuni* identifies a bipartite energy taxis system required for motility». *Molecular Microbiology*, 40: 214-224.
- Hensel, M.** (2000). «*Salmonella* Pathogenicity Islet 2». *Mol Microbiol.*, 36: 1015-1023.
- Hernández, M., Gómez-Laguna, J., Luque, I., Herrera-León, S., Maldonado, A., Reguillo, L., Astorga, R.** (2013). «*Salmonella* prevalence and characterization in a free-range pig processing plant: Tracking in trucks, lairage, slaughter line and quartering». *International Journal of Food Microbiology*, Volume 162, Issue 1, 1, Pages 48–54.
- Hill, A. A., Simons, R. L., Swart, A. N., Kelly, L., Hald, T., Snary, E. L.** (2016). «Assessing the Effectiveness of On-Farm and Abattoir Interventions in Reducing Pig Meat-Borne Salmonellosis within E.U. Member States». *Risk Anal.* 2016 Mar;36(3):546-60. doi: 10.1111/risa.12568.
- Hopkins, K. L., Desai, M., Frost, J. A., Stanley, J., Logan, J. M.** (2004). «Fluorescent amplified fragment length polymorphism genotyping of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains and its relationship with host specificity, serotyping, and phage typing». *J. Clin. Microbiol.*, 42:229-235.
- Hu, T. L., Kuo, P. C.** (2011). «Isolation of *Campylobacter* spp. in surface waters of Taiwan». *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 44: 15-20.
- Hurd, H. S., Gailey, J. K., McKean, J. D., Rostagno M. H.** (2001a). «Rapid infection in market-weight swine following exposure to a *Salmonella* Typhimurium contaminated environment». *American Journal of Veterinary Research*, 62:1194-1197.

- Hurd, H. S., McKean J. D., Wesley I. V., Karkiker L. A.** (2001b). «The effect of lairage on *Salmonella* isolation from market swine». *Journal of Food Protection*, 64:939-944.
- 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». *Applied Environmental Microbiology*, 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». *Epidemiology and Infection Volume*, 132:127- 135.
- Hurd, H. S., Gailey J. K., McKean J. D., Griffith R. W.** (2005). «Variable abattoir conditions affect *Salmonella enterica* prevalence and meat quality in swine and pork». *Foodborne Pathog. Dis.*, 2:77-81. 52.
- INEI Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas.** (2001). «Manual de procedimientos Campylobacter». INEI, Ministerio de Salud, Departamento de Bacteriología, Buenos Aires, Argentina.
- INNOVACC, Associació Catalana D’Innovació del Sector Carni Porcí** (2013). «Manual de Seguridad Alimentaria del Sector Cárnico Porcino.Como Gestionar los Principales Peligros».
- Instituto de Salud Carlos III** (2008). «Brotos de Enfermedades Transmitidas por Alimentos España, 2004-2007 (excluye brotes hídricos)». *Boletín Epidemiológico Semanal*. Semana 48,2008. Volumen 16, nº 21/241-252. http://revista.isciii.es/public/journals/1/pdf_114.pdf.
- Isaacson, R. E., Firkins L. D., Weigel R. M.** (1999). «Effect of transportation and feed withdrawal on shedding of *Salmonella* Typhimurium among experimentally infected pigs». *Journal of Veterinary Research*, 60:1155-1158.
- 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.
<http://www.aenor.es/aenor/normas/buscadornormas/detallecpa.asp?tipo=CPA&agrupac=ALIMENTACION-04&verificar=S#.WA05y-iLTIU>
- ISO** (2006a). «Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for Detection and Enumeration of *Campylobacter* spp. Part 1: Detection Method». Geneva: *International Organization for Standardization*. [ISO 10272-1:2006].
http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=37091
- ISO** (2006b). «Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for Detection and Enumeration of *Campylobacter* spp Part 2: Colony Count Technique». Geneva: *International Organization for Standardization*. [ISO/TS 10272-2:2006].
http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=37092
- ISO 17604:2013** (2013). «Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Toma de muestras de canales para análisis microbiológico». Modificada por por UNE-EN ISO 17604:2015.
<http://www.aenor.es/aenor/normas/buscadornormas/detallecpa.asp?tipo=CPA&agrupac=ALIMENTACION-03&verificar=S#.WA06GeiLTIU>

- Joshua, G. W., Guthrie-Irons, C., Karlyshev, A. V., Wren, B.W.** (2006). «Biofilm formation in *Campylobacter jejuni*». *Microbiology* 2006 Feb, 152 (Pt 2):387-9.
- Junta de Andalucía** (2012). «Instrucciones para el Control Oficial de Verificación del Plan de Muestreo de Canales en mataderos de Andalucía». Disponible en:
http://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/Instruccion.1142012_Muestreo_canales_matadero.pdf.
- Käsbohrer, A., Protz D., Helmuth R., Nöckler K., Blaha T., Conraths F. J., Geue L.** (2000). «Salmonella in slaughter pigs of German origin: an epidemiological study». *European Journal of Epidemiology*, 16: 141–146.
- Keller, J., Wieland, B., Wittwer, M., Stephan, R., Perreten, V.** (2007). «Distribution and genetic variability among *Campylobacter* spp. isolates from different animal species and humans in Switzerland». *Zoonoses Public Health*, 54: 2-7.
- Kich, J. D., Coldebella A., Morés N., Nogueira M. G., Cardoso M., Fratamico P. M., Call J. E., Fedorka-Cray P., Luchansky J. B.** (2011). «Prevalence, distribution, and molecular characterization of Salmonella recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil». *Food Microbiology*, 151(3):307-13.
- Kirchner, M., Marier, E., Miller, A., Snow, L., McLaren, I., Davies, R. H., Clifton-Hadley, F. A., Cook, A. J.** (2011). «Application of variable number of tandem repeat analysis to track *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar Typhimurium infection of pigs reared on three British farms through the production cycle to the abattoir». *Journal Applied Microbiology*. 2011 Oct;111(4):960-70. doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.05096.x. Epub 2011 Aug 18.
- Kranker, S., Alban, L., Boes, J., Dahl, J.** (2003). «Longitudinal study of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infection in three Danish farrow-to-finish swine herds». *Journal. Clinical Microbiology*, 41: 2282-2288.
- Kudirkiene, E., Buneviciene, J., Brondsted, L., Ingmer, H., Olsen, J.E., Malakauskas, M.** (2011). «Evidence of broiler meat contamination with post-disinfection strains of *Campylobacter jejuni* from slaughterhouse». *International Journal of Food Microbiology*, 145: 116-120.
- Kulkarni, S. P., Lever, S., Logan, J. M. J., Lawson, A. J., Stanley, J., Shafi, M. S.** (2002). «Detection of *Campylobacter* species: a comparison of culture and polymerase chain reaction based methods». *Journal of Clinical Pathology*, 55: 749-753.
- Le Minor, L., 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*». *International Journal of Systematic Bacteriology*, 37: 465-468.
- Letellier, A., Beauchamp G., Guevremont, E., D’Allaire, S., Hurnik, D., Quessy, S.** (2009). «Risk factors at slaughter associated with presence of *Salmonella* on hog carcasses in Canada». *Journal of Food Protection*, 72:2326–2331.

- Levin, R. E.** (2007). «Campylobacter jejuni: a review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection». *Food Biotechnology* 21, 271-347.
- Levy, A.J.** (1946). «A gastro-enteritis outbreak probably due to a bovine strain of vibrio». *The Journal of Infectious Diseases*, 18: 243-258.
- Lindblad, M., Lindmark, H., Thisted Lambertz, S., Lindqvist, R.** (2007). «Microbiological Baseline Study of Swine Carcasses at Swedish Slaughterhouse». *Journal of Food Protection*, Vol. 70, No. 8, Pages 1790–1797.
- Lior, H., Woodward, D. L., Edgar, J. A., Laroche, L. J., Gill, P.** (1982). «Serotyping of Campylobacter jejuni by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors». *Journal of Clinical Microbiology*, 15: 761-768.
- Löfström, C., Hansen, F., Hoorfar, J.** (2010). «Validation of a 20-h real-time PCR method for screening of Salmonella in poultry faecal samples». *Veterinary Microbiology*, 144: 511-51.
- Loynachan, A. T., Harris, D. L.** (2005). «Dose determination for acute Salmonella infection in pigs». *Applied Environmental Microbiology*, 71: 2753-2755.
- Lübeck, P. S., Cook, N., Wagner, M., Fach, P., Hoorfar, J.** (2003). «Toward an international standard for PCR-based detection of food-borne thermotolerant campylobacters: validation in a multicenter collaborative trial». *Applied and Environmental Microbiology* 69, 5670-5672.
- MAGRAMA, CRESA E IRTA** (2012). «Informe de zoonosis y resistencias antimicrobiana». <http://www.agro-alimentarias.coop/ficheros/doc/01650.pdf>.
- MAGRAMA, CRESA E IRTA** (2013). «Informe de zoonosis y resistencias antimicrobiana». http://rasve.magrama.es/Recursos/Ficheros/Historico/00_Informe%20de%20zoonosis%20y%20RAM%202013.pdf.
- MAGRAMA** (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) (2015). «El sector de la carne de cerdo en cifras. principales indicadores económicos en 2014».
- Maguire, H. C., Codd A. A., Mackay V. E., Rowe B., Mitchell E.** (1993). «A large outbreak of human salmonellosis traced to a local pig farm». *Epidemiology and Infection*, 110: 239-246.
- Malakauskas, M., Jorgensen, K., Nielsen E. M., Ojeniyi, B., Olsen, J. E.** (2006). «Isolation of Campylobacter spp. from a pig slaughterhouse and analysis of cross-contamination». *International Journal of Food Microbiology*, 108(3):295-300.
- Manning, G., Dowson, C. G., Bagnall, M. C., Ahmed, I. H., West, M., Newell, D. G.** (2003). «Multilocus sequence typing for comparison of veterinary and human isolates of Campylobacter jejuni». *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 6370-6379.
- Maramski, A.** (2012). «Prevalence of campylobacter spp. in pig slaughter carcasses during the processing». *Trakia Journal of Sciences*, Vol. 10, No 3, pp 62-67.

- Marier, E. A., Snow, L. C., Floyd, T., McLaren, I. M., Bianchini, J., Cook, A. J., Davies, R. H.** (2014). «Abattoir based survey of Salmonella in finishing pigs in the United Kingdom 2006-2007». *Prev Vet Med.* 2014 Dec 1;117(3-4):542-53. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.09.004. Epub 2014 Sep 19.
- Marin, C., Lainez M.** 2009. «Salmonella detection in feces during broiler rearing and after live transport to the slaughterhouse». *Poult. Sci.*, 88(9):1999-2005.
- Marshall, S. M., Melito, P. L., Woodward, D. L., Johnson, W. M., Rodgers, F. G., Mulvey, M. R.,** (1999). «Rapid identification of *Campylobacter*, *Arcobacter*, and *Helicobacter* isolates by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the 16S rRNA gene». *Journal of Clinical Microbiology* 37, 4158-4160.
- McCrea, B., Tonooka K., VanWorth 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.
- McDemid, A. S., Lever, M. S.** (1996). «Survival of Salmonella enteritidis PT4 and Salm. typhimurium Swindon in aerosols». *Letters in Applied Microbiology*. Volume 23, Issue 2, pages 107–109, August 1996.
- McDowell, S. W., Porter R., Madden R., Cooper B., Neill S. D.** (2007). «Salmonella in slaughter pigs in Northern Ireland: prevalence and use of statistical modelling to investigate sample and abattoir effects». *International Journal of Food Microbiology*, 118:116–125.
- McFadyean, J., Stockman, S.,** (1913). «Report of the Departmental Committee appointed by the Board of Agriculture and Fisheries to inquire into Epizootic Abortion». III. Abortion in Sheep. London: HMS.
- Melero, B., Juntunen, P., Hänninen, M., Jaime, I., Rovira, J.,** (2012). «Tracing Campylobacter jejuni strains along the poultry meat production chain from farm to retail by pulsed-field gel electrophoresis, and the antimicrobial resistance of isolates». *Food Microbiology*, 32: 124-128.
- Miller, W. G., Parker, C. T., Heath, S., Lastovica, A. J.,** (2007). «Identification of genomic differences between Campylobacter jejuni subsp. jejuni and C. jejuni subsp. doylei at the nap locus leads to the development of a C. jejuni subspeciation multiplex PCR method». *BMC Microbiology*, 7, 11.
- Milnes, A. S., Sayers, A. R., Stewart, I., Clifton-Hadley, F.A., Davies, R. H., Newell, D. G., Cook, A. J., Evans, S. J., Smith, R. P., Paiba, G. A.** (2009). «Factors related to the carriage of Verocytotoxigenic E. coli, Salmonella, thermophilic Campylobacter and Yersinia enterocolitica in cattle, sheep and pigs at slaughter». *Epidemiol Infect.* 2009 Aug;137(8):1135-48. doi: 10.1017/S095026880900199X. Epub 2009 Feb 10.
- Morais, L., Resende, H., Fraqueza, M. J., Vieira-Pinto, M.,** (2009). «Occurrence of Campylobacter spp. in carcasses of pigs slaughtered for consumption in Portugal». *Safe pork*, 66 ,257-260.
- Morgan, I. R., Krautil F. L., Craven J. A..** (1987). «Effect of time in lairage on caecal and carcass Salmonella contamination of slaughter pigs». *Epidemiology and Infection*, 98: 323-330.

- Nathues, C., Grüning, P., Fruth, A., Verspohl, J., Blaha, T., Kreienbrock, L., Merle, R.** (2013). «Campylobacter spp. Yersinia enterocolitica, and Salmonella enterica and their simultaneous occurrence in German fattening pig herds and their environment». *Journal of Food Protection*. 2013 Oct;76 (10):1704-11.
- Nesbakken, T., Eckner, K., Kristin Høidal, H., Røtterud, O.** (2003). «Occurrence of Yersinia enterocolitica and Campylobacter spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering, and dressing procedures». *International Journal of Food Microbiology*, 80: 231–24.
- Ng, L. K., Kingombe, C. I. B., Yan, W., Taylor, D. E., Hiratsuka, K., Malik, N., Garcia, M. M.**, (1997). «Specific detection and confirmation of Campylobacter jejuni by DNA hybridization and PCR». *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 4558-4563.
- Nicholson, M. A., Patton, C. M.**, (1993). «Application of Lior biotyping by use of genetically identified Campylobacter strains». *Journal of Clinical Microbiology*, 31: 3348-3350.
- Nielsen, B., Baggesen, D., Bager, F., Haugegaard, J., Lind, P.**, (1995). «The serological response to Salmonella serovars typhimurium and infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations». *Veterinary Microbiology*, 47: 205-21.
- Niemann, J. K., Alter, T., Götz, G., Tietze, E., Fruth, A., Rabsch, W., von Münchhausen, C., Merle, R., Kreienbrock, L.** (2016). «Simultaneous occurrence of Salmonella enterica, Campylobacter spp. and Yersinia enterocolitica along the pork production chain from farm to meat processing in five conventional fattening pig herds in Lower Saxony». *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 2016 Jul-Aug;129(7-8):296-303.
- Oliver, J. D.** (2005). «The viable but nonculturable state in bacteria». *J Microbiol.*, 43 Spec No: 93-100.
- OIE** (2008a). «Manual de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) sobre animales terrestres 2008. Salmonella. Capítulo 2.9.9». <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/>
- OIE** (2008b). «Manual de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) sobre animales terrestres 2008. Campylobacter jejuni y Campylobacter coli. Capítulo 2.9.3». <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/>
- Oliveira, C. J., Carvalho, L. F., Garcia, T. B.** (2006). «Experimental airborne transmission of Salmonella Agona and Salmonella Typhimurium in weaned pigs». *Epidemiol. Infect.*, 134:199.
- OMS, FAO** (2009). «CODEX ALIMENTARIUS, Higiene de los Alimentos». Textos básicos, Cuarta edición.
- OMS** (2011). «Campylobacter». *Nota descriptiva* N°255. Octubre de (2011).
- OMS** (2013). «Salmonella (no tifoidea)». *Nota descriptiva* N°139 Agosto de (2013).
- OMS** (2015a). «Resistencia a los antimicrobianos». *Nota descriptiva* N°194 Abril de (2015).

- OMS (2015b). «WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015». http://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/ferg/en/
- Ono, K., Yamamoto K. (1999). «Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan». *International Journal of Food Microbiology*, 47:211–219.
- Oosterom, J., Dekker, R., de Wilde, G. J., Van Kempen-de Troye, F., Engels, G. B. (1985). «Prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* during pig slaughtering». *Veterinary Quarterly*, Jan; 7 (1):31-4.
- Park, S. F. (2002). «The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens». *International Journal of Food Microbiology*, 74: 177-188.
- Paulin, S.M., Jagannathan, A., Campbell, J., Wallis, T. S., Stevens, M. P. (2007). «Net replication of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Choleraesuis in porcine intestinal mucosa and nodes is associated with their differential virulence». *Infect Immun*. 2007 Aug;75(8):3950-60. Epub 2007 Jun 4.
- Pearce, R. A., Wallace, F. M., Call, E., Dudley, R. L., Oser, A., Yoder, L., Sheridan, J. J., Luchansky, J. B. (2003). «Prevalence of *Campylobacter* within a Swine Slaughter and Processing Facility». *Journal of Food Protection*, Vol. 66, No. 9, Pages 1550–1556.
- Pearce, R. A., Bolton D. J., Sheridan J. J., McDowell D. A., Blair I. S., Harrington D. (2004). «Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems». *International Journal of Food Microbiology*, 90:331–339. 75.
- Penner, J. L., Hennessy, J. N., (1980). «Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* on the basis of heat-stable antigens». *Journal of Clinical Microbiology*, 12: 732-737.
- Piras, F., Brown D. J., Meloni D., Mureddu A., Mazzette R. (2011). «Investigation of *Salmonella enterica* in Sardinian slaughter pigs: prevalence, serotype and genotype characterization. International». *Journal of Food Microbiology*, 151:201–209.
- Popoff, M. Y., Le Minor, L., (1992). «Antigenic Formulas of the *Salmonella* serovars. WHO Collaborating Centre for References and Research on *Salmonella*». *Publ. Institut Pasteur, Paris, France*.
- Popoff, M. Y., Bockemuhl, J., Mc Whorter–murlin, A. (1994). «Supplement 1993 (No. 37) to the Kauffmann– White scheme». *World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella**, Unite des Enterobacteries, U389 INSERM, Institute Pasteur, Paris. *Res. Microbiol.*, 145, 711–716.
- Popoff, M.Y. (2001). «Antigenic Formulas of the *Salmonella* Serovars. World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*». *Pasteur Institute, Paris, France*.
- 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». *Veterinary research*, 31: 481-490.

- Proux, K., Cariolet, R., Fravallo, P., Houdayer, C., Keranflech, A., Madec, F.** (2001). «Contamination of pigs by nose-to-nose contact or airborne transmission of Salmonella Typhimurium». *Veterinary research*, 32: 591-600.
- Reed, W. M., Olander, H. J., Thacker, H. L.** (1986). «Studies on the pathogenesis of Salmonella Typhimurium and Salmonella Choleraesuis var kuzendorf infection in weanling pigs». *Am J Vet Res.*, 47: 75-83.
- Real Decreto** 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios del agua de consumo humano. BOE núm 45, de 21/02/2003.
- Real Decreto** 1940/2004, de 27 de septiembre, sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos. 32772 viernes 1 octubre 2004 BOE núm. 237.
- Reglamento** (CE) nº178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo de 28 de enero de 2002 por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la Seguridad Alimentaria (Diario Oficial de las Comunidades Europeas L 31/1 de 1.2.2002).
- Reglamento** (CE) nº 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo de 17 de noviembre de 2003 sobre el control de la salmonela y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos. Diario Oficial de la Unión Europea (L 325/1 de 12.12.2003).
- Reglamento** (CE) nº 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 relativo a la higiene de los productos alimenticios. Diario Oficial de la Unión Europea (L 139/1 de 30.4.2004).
- Reglamento** (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. Diario Oficial de la Unión Europea (L 139/55 de 30.4.2004).
- Reglamento** (CE) nº 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas para la organización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano (Diario Oficial de la Unión Europea L 139/206 de 30.4.2004).
- Reglamento** (CE) nº882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 sobre los controles oficiales efectuados para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre salud animal y bienestar de los animales (Diario Oficial de la Unión Europea L 191/1 de 28 .05.2004).
- Reglamento** (CE) nº2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios (Diario Oficial de la Unión Europea L 338/1 de 22 .12.2005).
- Reglamento** (CE) nº1069/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo de 21 de octubre de 2009 por el que se establecen las normas sanitarias aplicables a los subproductos animales y los productos derivados no destinados al consumo humano y por el que se deroga el Reglamento (CE) nº1774/2002 (Reglamento sobre subproductos animales) (Diario Oficial de la Unión Europea L300/1.14.11.2009).

- Reglamento** (UE) nº 217/2014 de la Comisión de 7 de marzo de 2014 que modifica el Reglamento (CE) nº2073/2005 relativo a la Salmonella en las canales de porcinos (Diario Oficial de la Unión Europea L 69/93 de 8.03.2014).
- Reglamento** (UE) nº 218/2014 de la Comisión de 7 de marzo de 2014 que modifica los anexos de los Reglamentos (CE) no 853/2004 y (CE) n o 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo y del Reglamento (CE) no2074/2005 de la Comisión. Diario Oficial de la Unión Europea (L 69/95 de 8.03.2014).
- RENAVE** (2013). «Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles». Informe anual año 2013. *RENAVE*, Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III.
- RENAVE** (2014). «Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles». Informe anual año 2014. *RENAVE*, Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III.
- RENAVE** (2015). «Micoorganismos declarados al Sistema de Información Microbiológica.España, semana 1 a 52 del año 2014». *RENAVE*, Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III.
- RENAVE** (2016). «Micoorganismos declarados al Sistema de Información Microbiológica.España, semana 53 del año 2015». *RENAVE*, Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III.
- Richardson, L. J., Cox N. A., Bailey J. S., Berrang M. E., Cox J. M., Buhr R. J., Fedorka-Cray P. J., Harrision M. A.** (2009). «Evaluation of Tecra broth, Bolton broth, and direct plating for recovery of *Campylobacter* spp. from broiler carcass rinsates from commercial processing plants». *Journal of Food Protection*, 72:972-977.
- Rodrigues, E. C., Souza M. C., Toledo S. S., Barbosa C. G., Reis E. M., Rodrigues D. P., Lázaro N. S.** (2011). «Effects of gamma irradiation on the viability and phenotypic characteristics of *Salmonella* Enteritidis inoculated into specific-pathogen-free eggs». *Journal of Food Protection*, 74(12): 2031-2038.
- Roop II, R. M., Smibert, R. M., Johnson, J. L., Krieg, N. R.** (1984). «Differential characteristics of catalase-positive *Campylobacters* correlated with DNA homology groups». *Canadian Journal of Microbiology*, 30: 938-951.
- Rosenquist, H., Sommer, H. M., Nielsen, N. L., Christensen, B. B.**, (2006). «The effect of slaughter operations on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant *Campylobacter*». *International Journal of Food Microbiology*, 108: 226-232.
- Rosenquist, H., Bengtsson, A., Hansen, T. B.** (2007). «A collaborative study on a Nordic standard protocol for detection and enumeration of thermotolerant *Campylobacter* in food». *International Journal of Food Microbiology*, 118: 201-213.
- 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 entérica*». *Applied Environmental Microbiology*, 69(8): 4489–4494.

- Schönberg-Norio, D., Takkinen, J., Hänninen, M. L., Katila, M. L., Kaukoranta, S. S., Mattila, L., Rautelin, H.** (2004). «Swimming and Campylobacter infections». *Emerging Infectious Diseases*, 10: 1474-1477.
- Schwartz, K. J.** (1999). «Salmonellosis». Eds. *Diseases of Swine*. Blackwell, Oxford, pp. 535-551.
- Sebald, M., Veron, M.** (1963). «Base DNA content and classification of vibrios». *Ann Inst Pasteur*, 105: 897-910.
- Shelobolina, E. S., Sullivan, S. A., O'Neill, K. R., Nevin, K. P., 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. Nov». *Applied Environmental Microbiology*, 70: 2959-2965.
- Sheridan, J. J.** (2000). «Monitoring CCPs in HACCP systems». In: *Brown, M. (Ed.), HACCP in the Meat Industry*. CRC Press, Boca Raton, pp. 203-230.
- Silva, J.; Leite, D.; Fernnades, M.; Mena, C.; Gibbs, P.; Teixeira, P.** (2011). «Campylobacter spp. as a foodborne pathogen: a review». *Front Microbiol.*, 2, (200):1-12.
- Skirrow, M. B.** (1977). «Campylobacter enteritis: a new disease». *Br Med J* 2(6078): 9-11.
- Smith, T., Taylor, M. S.** (1919). «Some Morphological and Biological Characters of the Spirilla (*Vibrio Fetus*, N. Sp.) Associated with Disease of the Fetal Membranes in Cattle». *Journal of Experimental Medicine*, 30(4): 299-311.
- Snary, E. L., Swart, A. N., Simons, R. R. L., Domingues, A. R. C., Vigre, H., Evers, E. G., Hald, T. and Hill, A. A.** (2016). «A Quantitative Microbiological Risk Assessment for *Salmonella* in Pigs for the European Union». *Risk Analysis*, 36: 437–449. doi:10.1111/risa.12586.
- Sørensen, L. L., L. Alban, B. Nielsen, J. Dahl.** (2004). «The correlation between Salmonella serology and isolation of Salmonella in Danish pigs at slaughter». *Veterinary Microbiology*, 101:131–141. 85.
- Sørensen, L. L., Wachmann, H. Alban, L.** (2007). «Estimation of Salmonella prevalence on individual-level based upon pooled swab samples from swine carcasses». *Veterinary Microbiology*, 119:213–220.
- Steinhauserova, I., Nebola, M., Mikulicova, M.** (2005). «Prevalence of thermophilic Campylobacter spp. in slaughtered pigs in the Czech Republic». *Veterinary Medicine*, 50, (4): 171–174.
- Swanenburg, M., Urlings H. A., Keuzenkamp D. A., Snijders J. M.** (2001a). «Salmonella in the lairage of pig slaughterhouses». *Journal of Food Protection*, 64:12–16. 90.
- Swanenburg, M., Urlings, H. A., Snijders, J. M., Keuzenkamp, D. A., van Knapen, F.** (2001b). «Salmonella in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses». *International Journal of Food Microbiology*, 70:243–254. 91.

- Swanenburg, M., van der Wolf P. J., Urlings H. A., Snijders J. M., and van Knapen F.** (2001c). «Salmonella in slaughter pigs: the effect of logistic slaughter procedures of pigs on the prevalence of Salmonella in pork». *International Journal of Food Microbiology*, 70:231–242.
- Szygalski Biasi, R., Ernlund Freitas de Macedo, R., Scaranello Malaquias, M., Rogério Franchin, P.** (2011). «Prevalence, strain identification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered pig carcasses in Brazil». *Food Control*, 22: 702-707.
- Taragui, M.** (2005). «Color-enhanced scanning electron micrograph showing *Salmonella typhimurium* (red) invading cultured human cells» Credit: *Rocky Mountain Laboratories, NIAID*.
<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:SalmonellaNIAID.jpg?uselang=es>
- Tenkate, T. D., Stafford, R. J.** (2001). «Risk factors for *Campylobacter* infection in infants and young children: a matched case–control study». *Epidemiology and Infection*, 127: 399-404.
- Torralbo, A.** (2013). «*Campylobacter* spp. En granjas y matadero de broilers y en perros domésticos en Andalucía: estudio microbiológico, epidemiológico y de sensibilidad antimicrobiana». *Tesis Doctoral. Córdoba. Universidad de Córdoba*.
- Torres, C. y Zarazaga, M.** (2002). Departamento de Agricultura y Alimentación. Universidad de La Rioja. Logroño. «Antibióticos como promotores del crecimiento en animales.¿Vamos por el buen camino?» Editoriales.*Gac Sanit* 2002, 16(2):109-12.
- Ugarte-Ruiz, M., Gómez-Barrero, S., Porrero, M.C., Álvarez, J., García, M., Comerón, M. C., Wassenaar, T. M., Domínguez, L.** (2012). «Evaluation of four protocols for the detection and isolation of thermophilic *Campylobacter* from different matrices». *Journal of Applied Microbiology*, 113: 200-208.
- Vandamme, P., Dewhirst, F. E., Paster, B. J., On, S. L. W.** (2005). Family I: *Campylobacteraceae* Vandamme and De Ley 1991, 453 (VP). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2: the Proteobacteria, part C : the Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria. p. 1145-1145.
- Vandamme, P., Debruyne, L., De Brandt, E., Falsen, E.** (2010). «Reclassification of *Bacteroides ureolyticus* as *Campylobacter ureolyticus* comb. nov. and emended description of the genus *Campylobacter*». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60: 2016-2022.
- Van De Giessen, A. W., Bloemberg, B. P. M., Ritmeester, W. S., Tilburg, J. J. H. C.** (1996). «Epidemiological study on risk factors and risk reducing measures for *Campylobacter* infections in Dutch broilers flocks». *Epidemiology and Infection*, 117: 245-250.
- Van der Gaag, M., Saatkamp, H. W., Huirne, R. B. M.** (2001). «Elicitation of expert knowledge on dynamics of *Salmonella* infections and contamination in the pork chain». In: *Proceedings of the 4th International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork*, Leipzig, Germany., pp. 259-261.
- Van der Heijden, H. M. J. F., Boleij P. H. M., Loeffen W. L. A., Bongers J. H., van der Wolf P. J., Tielen M. J. M.** (1998). «Development and validation of an indirect ELISA for the detection of antibodies against *Salmonella* in swine». *Proceedings of the 15th International Pig Veterinary Society Congress*, pp. 69. Birmingham, England.

- Van Hoek, A. H., de Jong, R., van Overbeek, W. M., Bouw, E., Pielaat, A., Smid, J. H., Malorny, B., Junker, E., Löfström, C., Pedersen, K., Aarts, H. J., Heres, L.** (2012). «A quantitative approach towards a better understanding of the dynamics of Salmonella spp. in a porkslaughter-line». *International Journal of Food Microbiology*. 2012 Feb 1;153(1-2):45-52. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.013. Epub 2011 Oct 30.
- Véron, M., Chatelain, R.** (1973). «Taxonomic study of the genus Campylobacter Sebald and Veron and designation of the neotype strain for the type species Campylobacter fetus (Smith and Taylor) Sebald and Veron». *International Journal of Systematic Bacteriology*, 23: 122-134.
- Vieira-Pinto, M., Tenreiro, R., Martins, C.** (2006). «Unveiling contamination sources and dissemination routes of Salmonella sp. in pigs at a Portuguese slaughterhouse through macrorestriction profiling by pulsed-field gel electrophoresis». *International Journal of Food Microbiology*, 110(1):77-84. Epub 2006 Jul 7.
- Vimal D. B., Khullar M., Gupta S., Ganguly N. K.** (2000). «Intestinal mucins: the binding sites for Salmonella Typhimurium». *Molecular and Cellular Biochemistry*, 204: 107-117.
- Waltman, W. D.** (2000). «Methods for the Cultural Isolation of Salmonella». En: Wray C., Wray A. (Eds.), «Salmonella in Domestic Animals». *CABI Publishing*, Wallingford, UK, pp. 335-372.
- Wassenaar, T. M., Blaser, M. J.** (1999). «Pathophysiology of Campylobacter jejuni infections of humans». *Microbes and Infection* 1, 1023-1033.
- Wassenaar, T. M., Newell, D. G.** (2000). «Genotyping of Campylobacter spp». *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 1-9.
- Wegener, H. C., Baggesen D. L., Gaarslev K.** (1994). «Salmonella Typhimurium phage types from human salmonellosis in Denmark 1988-1993». *APMIS*, 102: 521-525.
- Wehebrink, T., Kemper, N., Beilage, E., Krieter, J.** (2008). «Prevalence of Campylobacter spp. and Yersinia spp. in the pig production». *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2008 Jan-Feb;121(1-2):27-32.
- Wheatley Paul, S. Giotis Efstathios; McKeivitt Aideen I.** (2014). «Effects of slaughtering operations on carcass contamination in an Irish pork production plant». *Ir Vet J.* 2014; 67(1): 1. Published online 2014 Jan 18. doi: 10.1186/2046-0481-67-1.
- Wieczorek, K., Osek, J.,** (2013). «Characteristics and antimicrobial resistance of Campylobacter isolated from pig and cattle carcasses in Poland». *Polish Journal of Veterinary Sciences* Vol. 16, No. 3, 501–508.
- Wilcock, B. P., Schwartz K.** (1992). «Salmonellosis». *Diseases of Swine*, 7th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, p. 570-583.
- Wilma, C., Hazeleger, R. R., Beumer, F. D., Rombouts, F. M.** (1992). «The use of latex agglutination tests for determining Campylobacter species». *Letter in Applied Microbiology*, 14: 181-184.
- Wiuff, C., Thorberg B. M., Engvall A., Lind P.** (2002). «Immunochemical analyses of serum antibodies from pig herds in a Salmonella non-endemic region». *Veterinary Microbiology*, 85: 69-68.

- Wood, R. L., Pospischil A., Rose A.** (1989). «Distribution of persistent Salmonella Typhimurium infection in internal organs of swine». *Am J Vet Res*, 50: 1015-1021.
- Yamamoto, T., Takano, T., Higuchi, W., Hung, W.C., Reva, I., Yabe, S., Iwao, Y., Khokhlova, O.** (2013). «Unique features of the motility and structures in the flagellate polar region of Campylobacter jejuni and other species: and electron microscopic study». *Microbiology and Immunology*, 57: 83-90.
- Young, C. R., Harvey, R., Anderson, R., Nisbet, D., Stanker, L. H.** (2000). «Enteric colonization following natural exposure to Campylobacter in pigs». *Res Vet Sci*, 68:75–78. 9.
- Zhang, S., Adams L. G., Nunes J., Khare S., Tsois R. M., Bäumlner A. J.** (2003). «Secreted effector proteins of Salmonella enterica serotype Typhimurium elicit host-specific chemokine profiles in animal models of typhoid fever and enterocolitis». *Infection and Immunity*, 71: 4795-4803.
- Zhou, D., Galan J.** (2001). «Salmonella entry into host cells: the work in concert of type III secreted effector proteins». *Microbes Infection*, 3: 1293-1298.

11. ANEXOS

ANEXO 1.

Glosario de Abreviaturas.

– ADN	Ácido desoxirribonucleico
– AECOSAN	Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición
– APPCC	Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos
– ARN	Ácido ribonucleico
– aw	Actividad del agua
– BGS	Agar verde brillante
– BPW	Agua de peptona tamponada
– BSE	Encefalopatía Espongiforme Bovina
– CE	Comunidad Europea
– CCAA	Comunidades Autónomas
– CV	Comunidad Valenciana
– ECDC	Centro Europeo para el Control de Enfermedades
– EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
– ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
– EM:	Estados Miembros
– FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
– HL	<i>Heat-labile</i>
– HS	<i>Heat-stable</i>
– INEI	Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas
– ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
– LPS	Lipopolisacárido
– MAGRAMA	Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente
– MCCDD	Identificación en Medio Sólido
– MKT	<i>Muller-Kauffman-Tetrionato</i>
– MLST	Análisis de Secuencias multi-locus
– MLVA	Análisis de Variabilidad de secuencias multi-locus
– OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal
– OMS	Organización Mundial de la Salud
– PCC	Puntos de Control Críticos
– PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
– PFGE	Electroforesis de Campo Pulsado
– PPA	Peste Porcina Africana
– PPC	Peste Porcina Clásica
– PRRS	Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino
– RENAVE	Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica

- **RGSEAA** Registro General Sanitario de Empresas Alimentarias y Alimentos
- **RHO** Requisitos de higiene operativos
- **RLFP** Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción
- **RPHT** Requisitos Previos de Higiene y Trazabilidad
- **RV** *Rappaport- Vassiliadis*
- **SIM** Sistema de Información Microbiológica
- **UE** Unión Europea
- **UPB** Medio de enriquecimiento universal
- **VPNC** Estado Viable Pero No Cultivable
- **XLD** Xilosa-lisina-desoxichocolate
- **XLT4** Agar xilosa-lisina-tergitol

ANEXO 2.

Glosario de Tablas.

Tabla 1: Pruebas bioquímicas para <i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> (I). Fuente: elaboración propia con datos de García, 2011.	5
Tabla 2: Número de serotipos descritos y principales hábitats para las diferentes especies y subespecies de <i>Salmonella</i> spp. Fuente: elaboración propia con datos de Argüello, 2013a.	6
Tabla 3: Características bioquímicas de especies de <i>Campylobacter</i> spp. termotolerantes. Fuente: elaboración propia basada en INEI, 2001.	17
Tabla 4: Microorganismos declarados al sistema de Información Microbiológica. Fuente: elaboración propia con datos de RENAVE (RENAVE, 2015; RENAVE, 2016).	28
Tabla 5: Porcentaje de resistencias a distintos antimicrobianos en <i>Campylobacter coli</i> de origen porcino durante 2011. Fuente: elaboración propia con datos del Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas 2012, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA, 2012).	31
Tabla 6: Porcentaje de resistencias a distintos antimicrobianos en <i>Salmonella</i> Entérica de origen porcino durante el año 2011. Fuente: elaboración propia con datos del Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas 2012 (MAGRAMA, 2012).	31
Tabla 7: Porcentaje de resistencias a distintos antimicrobianos en <i>Salmonella</i> Typhimurium de origen porcino durante el año 2011. Fuente: elaboración propia con datos del Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas 2012 (MAGRAMA, 2102).	31
Tabla 8: Porcentaje de resistencias a distintos antimicrobianos en aislados de <i>Salmonella</i> Typhimurium monofásica de cerdos durante 2013. Fuente: elaboración propia basada en el Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas 2013. (MAGRAMA, 2013).	32
Tabla 9: Porcentaje de resistencias a distintos antimicrobianos en <i>Campylobacter</i> spp. de origen porcino durante el 2013. Fuente: elaboración propia basada en el Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas 2013 (MAGRAMA, 2013).	32
Tabla 10: <i>Salmonella</i> spp. en carne fresca de cerdo en muestras de matadero, salas de despiece y procesado y comercio minorista analizadas en la UE en 2014. Fuente: elaboración propia con datos de EFSA, 2015b.	42
Tabla 11: <i>Salmonella</i> spp. en productos a base de carne picada, preparados cárnicos y productos cárnicos de carne de cerdo analizadas en la UE en 2014. Fuente: elaboración propia con datos de EFSA 2015b.	43
Tabla 12: Alimentos analizados para la presencia de <i>Salmonella</i> spp. en 2013. Fuente: elaboración propia basada en el Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas 2013 (MAGRAMA, 2013).	44
Tabla 13: <i>Campylobacter</i> spp. en carne fresca de cerdo en muestras de matadero, salas de despiece y procesado y comercio minorista analizadas en la UE en 2014. Fuente: Elaboración propia con datos de EFSA 2015b.	45
Tabla 14: <i>Campylobacter</i> spp. en muestras analizadas de productos listos para el consumo a base de carne de cerdo en la UE en 2014. Fuente: elaboración propia con datos de EFSA 2015b.	46
Tabla 15: Muestras de alimentos analizadas y positivas a <i>Campylobacter</i> spp. en 2013. Fuente: elaboración propia con datos del Informe de Zoonosis y Resistencias antimicrobianas, 2013 (MAGRAMA 2013).	47

Tabla 16: <i>Salmonella</i> spp. en ganado porcino, datos de programas de monitorización para la UE durante 2014. Fuente: elaboración propia con datos de la EFSA 2015b.....	58
Tabla 17: Encuesta anual de sacrificio de ganado en mataderos 2014. Desagregación provincial del censo de cabezas sacrificadas por especies. Fuente: elaboración propia basada en MAGRAMA, 2015).	85
Tabla 18: Número y porcentaje de muestras recogidas por matadero objeto de estudio.	109
Tabla 19: Porcentaje de muestras positivas a ambos patógenos de importancia en Salud Pública (<i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp.) en función del matadero estudiado.	110
Tabla 20: Porcentaje de muestras positivas a ambos patógenos de importancia en Salud Pública (<i>Salmonella</i> spp. y <i>Campylobacter</i> spp.).....	111
Tabla 21: Porcentaje de positividad a <i>Salmonella</i> spp. en función de la muestra recogida en matadero.....	112
Tabla 22: Porcentaje de positividad a <i>Campylobacter</i> spp. en función de la muestra recogida en matadero.....	112
Tabla 23: Número de explotaciones y censo porcino en la CV por tipo de explotación. Fuente: elaboración propia con datos aportados por Consellería de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural, 2016.....	168
Tabla 24: Principales países productores de carne de cerdo (en miles de toneladas). Fuente: elaboración propia con datos de MAGRAMA 2015.....	169
Tabla 25: Valoración de la aparición de <i>Salmonella</i> en la etapa de cocinado. Fuente: Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria 2005.....	171
Tabla 26: Evaluación de la gravedad, frecuencia y probabilidad de no detección de <i>Salmonella</i> en la etapa de cocinado.....	171
Tabla 27: Identificación de peligros significativos.....	173

ANEXO 3.

Glosario de Gráficos.

Gráfico 1: Notificaciones informadas de zoonosis en humanos para la UE en 2014. Fuente: EFSA, 2015b.....	34
Gráfico 2: Tendencia de <i>Salmonella</i> para el periodo 2008-2013 en función del serotipo estudiado. Fuente: RENAVE, 2013.....	36
Gráfico 3: Distribución de los brotes alimentarios con elevadas evidencias causados por <i>Salmonella</i> en la UE para 2014. Fuente: elaboración propia basada en EFSA, 2015.b	40
Gráfico 4: Distribución de los brotes alimentarios con elevadas evidencias causados por <i>Salmonella</i> Enteritidis en la UE para 2014. Fuente: elaboración propia basada en EFSA, 2015b.....	41
Gráfico 5: Distribución de los brotes alimentarios con elevadas evidencias causados por <i>Salmonella</i> Typhimurium en la UE para 2014. Fuente: elaboración propia basada en EFSA, 2015b.....	41
Gráfico 6: Distribución de los brotes alimentarios causados por <i>Campylobacter</i> (excluyendo los brotes en aguas) para la UE en 2014. Fuente: elaboración propia basada en EFSA 2015b.....	45
Gráfico 7: Evolución de las toxiinfecciones alimentarias para el periodo 2006-2014. Año 2014. Fuente: DGSP, 2015.47	
Gráfico 8: Número de explotaciones de ganado porcino en España: distribución por comunidades autónomas para 2014. Fuente: elaboración propia basada en MAGRAMA, 2015.....	52
Gráfico 9: Cadena Alimentaria en el sector cárnico porcino. Fuente: elaboración propia.....	66
Gráfico 10: Diagrama de flujo del proceso de sacrificio porcino. Fuente: elaboración propia basada en FEDACOVA, 2011.....	71
Gráfico 11: Esquema de las muestras tomadas en cada etapa del matadero de porcino. Fuente: elaboración propia. ...	88
Gráfico 12: Esquema de un matadero estándar de sacrificio y procesado de canales de porcino. Fuente: elaboración propia basado en figura 1 de Botteldoorn <i>et al.</i> , 2003.....	90
Gráfico 13: Ubicación de los mataderos.....	97
Gráfico 14: Animales sacrificados 2014 en relación a la provincia muestreada.....	98
Gráfico 15: Animales sacrificados en los mataderos objeto de estudio.....	98
Gráfico 16: Visitas realizadas a mataderos en función del número de animales sacrificados.....	99
Gráfico 17: Tamaño de los mataderos.....	100
Gráfico 18: Mantenimiento de las instalaciones.....	101
Gráfico 19: Higiene de las instalaciones.....	101
Gráfico 20: Mantenimiento de los Equipos.....	102
Gráfico 21: Higiene de los Equipos.....	103
Gráfico 22: Aplicación de la Formación por los manipuladores.....	103
Gráfico 23: Manipulación en la etapa de evisceración.....	104
Gráfico 24: Desinfección de cuchillos.....	104
Gráfico 25: Higiene de la vestimenta.....	105
Gráfico 26: Lavado canales.....	106
Gráfico 27: Túnel de pre-enfriado.....	106
Gráfico 28: Ayuno de los animales.....	107

Gráfico 29: Origen de los animales muestreados.	107
Gráfico 30: Detergentes y desinfectantes más utilizados.....	108
Gráfico 31: Número de muestras recogidas por matadero.	110
Gráfico 32: Arbol de decisiones. Fuente Codex Alimentarius (OMS, FAO 2009).....	172

ANEXO 4.**Glosario de Imágenes.**

Imagen 1: <i>Salmonella</i> spp. Fuente: Taragui, 2005.	4
Imagen 2: Primer aislado de <i>Campylobacter</i> spp. Fuente: Aguilar, 2014.....	15
Imagen 3: Esquema de la Norma ISO 6579:2002 (Anexo D) para aislamiento de <i>Salmonella</i> spp. Fuente Norma ISO 6579:2002.....	91
Imagen 4: ISO 10272-2:2006 (Anexo E) esquema para la detección de <i>Campylobacter</i> spp. Fuente: Norma ISO 10272-2006.....	92

ANEXO 5.**Glosario de Ilustraciones.**

Ilustración 1: Etapas de un LPS-ELISA indirecto. Fuente: Argüello 2013a.	11
Ilustración 2: Principales técnicas de tipificación de <i>Salmonella</i> . Fuente: Argüello, 2013a.	14
Ilustración 3: Principales rutas de transmisión de enfermedades transmitidas por alimentos en humanos. Fuente: elaboración propia basada en OMS, 2015b.	27
Ilustración 4: Puntos de toma (círculos azules) de muestra en canal. Fuente: elaboración propia basada en Allbiz, 2016.	89

ANEXO 6.**Glosario de Cuadros.**

Cuadro 1: Pruebas confirmativas para <i>Campylobacter</i> termófilo. Fuente: elaboración propia con datos de OIE, 2008b.	21
Cuadro 2: Características fenotípicas básicas de especies termófilas seleccionadas de <i>Campylobacter</i> . Fuente: elaboración propia con datos de OIE, 2008b.	22

ANEXO 7.

Tabla 2323: Número de explotaciones y censo porcino en la CV por tipo de explotación. Fuente: elaboración propia con datos aportados por Consellería de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural, 2016.

TIPO EXPLOTACIÓN	PROVINCIA	Nº EXPLOTACIONES	CENSO	
Cebadero	Alicante	15	15.034	
	Castellón	433	496.666	
	Valencia	264	305.868	
	Comunidad Valenciana	712	817.568	
Ciclo cerrado	Alicante	3	Cebo	reproductoras
			2.522	514
	Castellón	43	cebo	reproductoras
			34.152	5.687
	Valencia	13	cebo	reproductoras
			9.782	1.596
	Comunidad Valenciana	59	cebo	reproductoras
			46.456	7.797
Producción de lechones	Alicante	4	1.745	
	Castellón	38	17.623	
	Valencia	24	21.314	
	Comunidad Valenciana	66	40.682	
Producción mixta	Alicante	15	1.241	
	Castellón	31	8.737	
	Valencia	12	9.213	
	Comunidad Valenciana	58	19.191	
Transición lechones	Alicante	4	21.699	
	Castellón	5	15.478	
	Valencia	12	55.620	
	Comunidad Valenciana	21	92.797	

ANEXO 8.**Tabla 24: Principales países productores de carne de cerdo (en miles de toneladas). Fuente: elaboración propia con datos de MAGRAMA 2015.**

Países	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	%
China	46.505	42.878	46.205	48.905	50.712	50.604	53.427	54.930	56.500	51,2
U.E.	21.405	22.781	22.564	21.416	22.101	22.426	21.991	21.996	22.250	20,2
EE. UU:	9.559	9.962	10.599	10.442	10.186	10.331	10.554	10.524	10.329	9,4
Brasil	2.830	2.990	3.015	3.130	3.195	3.227	3.330	3.280	3.344	3,0
Canadá	1.748	1.746	1.786	1.788	1.779	1.812	1.840	1.819	1.830	1,7
Rusia	1.805	1.640	1.736	1.844	1.981	2.064	2.175	2.400	2.650	2,4
Japón	1.247	1.250	1.249	1.310	1.292	1.267	1.297	1.309	1.273	1,2
México	1.109	1.152	1.161	1.162	1.175	1.202	1.239	1.281	1.280	1,2
Corea S.	1.000	1.043	1.056	1.062	1.110	837	1.086	1.252	1.182	1,1
Vietnam	1.713	1.832	1.850	2.090	2.217	2.262	2.307	2.349	2.425	2,2
Filipinas	1.215	1.250	1.242	1.246	1.260	1.288	1.310	1.340	1.365	1,2
Otros	5.201	5.356	5.402	5.334	5.498	5.782	5.925	6.037	5.918	5,4
TOTAL	95.337	93.880	97.865	99.729	102.506	103.102	106.481	108.517	110.346	100

ANEXO 9.

Reglamento (CE) n°2073/2005 y Reglamento (UE) n° 217/2014 de la Comisión.

Capítulo 1. Criterios de Seguridad Alimentaria.

1.4. Carne picada y preparados de carne destinados a ser consumidos crudos	<i>Salmonella</i>	n=5	c=0	Ausencia en 25 g	EN/ISO 6579	Productos comercializados durante su vida útil
1.6. Carne picada y preparados de carne a base de especies distintas a las aves de corral destinados a ser consumidos cocinados	<i>Salmonella</i>	n=5	c=0	Ausencia en 10 g	EN/ISO 6579	Productos comercializados durante su vida útil
1.7. Carne separada mecánicamente (CSM)	<i>Salmonella</i>	n=5	c=0	Ausencia en 10 g	EN/ISO 6579	Productos comercializados durante su vida útil
1.8. Productos cárnicos destinados a ser consumidos crudos, excluidos los productos en los que el proceso de fabricación o la composición del producto elimine el riesgo de <i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	n=5	c=0	Ausencia en 25 g	EN/ISO 6579	Productos comercializados durante su vida útil

Capítulo 2: Criterios de higiene de los procesos.

2.1. Carne y productos derivados.

2.1.2. Canales porcinas	Recuento de colonias aerobias	4,0 log ufc/cm2 media logarítmica diaria	5,0 log ufc/cm2 media logarítmica diaria	ISO 4833	Canales después de su faenado pero antes del enfriamiento	Mejoras en la higiene del sacrificio y revisión de los controles del proceso
	<i>Enterobacteriaceae</i>	2,0 log ufc/cm2 media logarítmica diaria	3,0 log ufc/cm2 media logarítmica diaria	ISO 21528-2	Canales después de su faenado pero antes del enfriamiento	Mejoras en la higiene del sacrificio y revisión de los controles del proceso

2.1.4. Canales porcinas	<i>Salmonella</i>	50 <u>(5)</u>	3 <u>(6)</u>	Ausencia en la zona examinada por canal	EN/ISO 6579	Canales después de su faenado pero antes del enfriamiento	Mejoras en la higiene del sacrificio y revisión de los controles del proceso, del origen de los animales y de las medidas de bioseguridad en las explotaciones de origen
-------------------------	-------------------	---------------	--------------	---	-------------	---	--

ANEXO 10.

Tabla 2525: Valoración de la aparición de *Salmonella* en la etapa de cocinado. Fuente: Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria 2005.

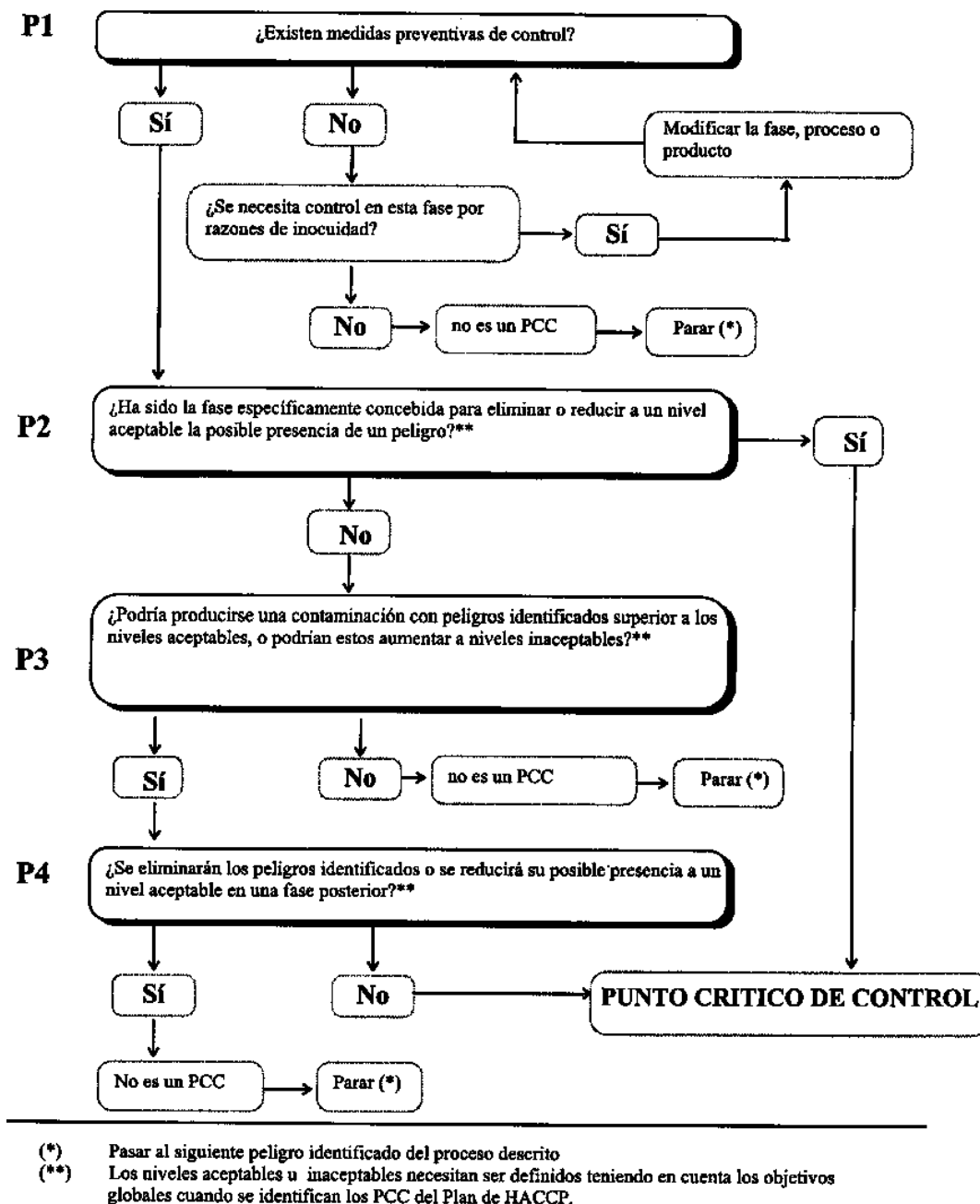
Peligro	Probabilidad de presentación			Gravedad para la salud			Conclusión o resultado
	Alta	Media	Baja	Alta	Media	Baja	
Persistencia de <i>Salmonella</i> en la etapa de cocinado	✓			✓			Hay que considerar este peligro

Tabla 26: Evaluación de la gravedad, frecuencia y probabilidad de no detección de *Salmonella* en la etapa de cocinado. Fuente: Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria 2005.

Gravedad para la salud	Frecuencia	Probabilidad de no-detección	Puntuación
Peligro crítico	Alta	Alta	5
Peligro mayor	Media	Media	3
Peligro menor	Baja	Baja	1

Peligro	Gravedad	Frecuencia	Probabilidad de no-detección	Puntuación	Conclusión o resultado
Persistencia de <i>Salmonella</i> en la etapa de cocinado	5	5	5	5x5x5=125	Hay que considerar este peligro

ANEXO 11.

Gráfico 32: Árbol de decisiones. Fuente *Codex Alimentarius* (OMS, FAO 2009)

ANEXO 12.

Tabla 27: Identificación de peligros significativos. Fuente: elaboración propia basada en FEDACOVA, 2011.

IDENTIFICACIÓN DE PELIGROS SIGNIFICATIVOS			
FAMILIAS			
TIPO DE PELIGROS	Especies bovinos, ovinos y caprinos	Especie: equinos	Especie: porcino
Físico	Son los generales para cualquier industria alimentaria: restos agujas de inyección, metales, alambres, vidrios, etc.		
Químico	Son los generales para cualquier industria alimentaria: <ul style="list-style-type: none"> • Residuos de medicamentos veterinarios • Contaminantes ambientales como PCB's • Metales pesados • Aceites de engrasar maquinaria • Biocidas empleados en el control de plagas • Contaminantes aportados por el agua utilizada durante el proceso • Componentes de la tinta alimentaria, etc. 		
Biológicos			
<i>Salmonella</i> spp.	X	X	X
<i>Listeria monocytogens</i>	X	X	X
<i>Staphylococcus aureus</i>	X	X	X
<i>Escherichia coli</i>	X	X	X
<i>Clostridium perfringens</i>	X	X	X
<i>Yersenia enterocolitica</i>			X

ANEXO 13.

Encuestas epidemiológicas.

ENCUESTA MATADEROS.

DATOS GENERALES DEL MATADERO (Codificado)			
Nombre/Razón Social			
CIF / NIF			
Domicilio			
Municipio		C.P.	
Provincia			
Número trabajadores			
Fecha		Número total de animales sacrificados	

CONDICIONES GENERALES DEL MATADERO					
1. Localización					
Polígono industrial	<input type="checkbox"/>	Núcleo urbano	<input type="checkbox"/>	Zona rural aislada	<input type="checkbox"/>
2.- ¿Existen posibles focos contaminantes cerca de la industria?.					
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
3.- ¿De qué tipo?.					
Vertederos	<input type="checkbox"/>	Explotaciones Ganaderas	<input type="checkbox"/>	Otros	<input type="checkbox"/>
4.- ¿El diseño de la industria es adecuado e impide el cruce de líneas?.					
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
5.- ¿Sacrifica una o varias especies?.					
Una sola especie	<input type="checkbox"/>	¿Cuál?			
6.- ¿Qué especies?.					
Vacuno	<input type="checkbox"/>	Ovino	<input type="checkbox"/>	Caprino	<input type="checkbox"/>
Equino	<input type="checkbox"/>	Porcino	<input type="checkbox"/>	Avícola	<input type="checkbox"/>
Conejos	<input type="checkbox"/>	Otros (especificar):			
7.- ¿En caso de sacrificar otras especies, se sigue un orden específico de sacrificio?.					
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
8.- ¿Qué orden se sigue?					
1.		2.		3.	

4.		5.		6.	
9.- ¿Qué capacidad de sacrificio (nº animales/hora) en porcino tiene la empresa?.					
10.- ¿Se sobrepasa esta capacidad en alguna ocasión?					
Nunca	<input type="checkbox"/>	Siempre	<input type="checkbox"/>	Ocasionalmente	<input type="checkbox"/>
11.- ¿Cuántos animales se van a sacrificar en el día de hoy*?.					
*se entiende por el <i>día de hoy</i> el día en que se realiza la encuesta.					
12.- ¿Disponen de sala de despiece anexa?.					
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
13.- ¿Disponen de agua potable en todas las instalaciones?.					
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
14.- En caso de no disponer de agua potable. ¿Disponen de un dosificador de cloro?.					
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
15.- ¿Disponen de registros de control de cloro?.					
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
16.- ¿Con qué frecuencia?.					
Diario	<input type="checkbox"/>	Semanal	<input type="checkbox"/>	Mensual	<input type="checkbox"/>
17.- ¿Realizan analíticas de agua?.					
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
18.- ¿Con qué frecuencia?.					
Una al año	<input type="checkbox"/>	Dos al año	<input type="checkbox"/>	Más de dos al año	<input type="checkbox"/>
19.- ¿Disponen de lavamanos con agua fría y caliente cercanos a los puestos de trabajo?.					
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
20.- ¿Qué tipo de lavamanos?.					
De pedal	<input type="checkbox"/>	De codo	<input type="checkbox"/>		
21.- ¿Disponen de jabón desinfectante en el lavamanos?.					
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		

DATOS DE LA EXPLOTACION DE ORIGEN							
22.- Datos del titular.							
Titular							
Nº REGA				NIF / CIF			
Ubicación explotación							
23.- Tipo de explotación.							
Reproducción	<input type="checkbox"/>	Cebadero	<input type="checkbox"/>	Transición	<input type="checkbox"/>	Familiar	<input type="checkbox"/>
24.- Modelo de explotación.							
Integración	<input type="checkbox"/>	Otros	<input type="checkbox"/>	Nombre de la Empresa integradora			
25- Número de animales/guía.							

26- ¿Es proveedor habitual del matadero?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
27- ¿Cuántas veces a la semana entra animales?.			
Una	<input type="checkbox"/>	Dos	<input type="checkbox"/>
Tres	<input type="checkbox"/>	Más de tres	<input type="checkbox"/>

VIGILANCIA Y CONTROL DE PUNTOS CRITICOS			
28.- ¿La empresa dispone de sistema APPCC?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
29.- ¿La empresa dispone de un plan específico de limpieza y desinfección para cada etapa?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
30.- ¿Utiliza detergentes?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
31.- ¿De qué tipo? (nombre comercial / principio activo / ficha técnica).			
32.- ¿Utilizan desinfectantes?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
33.- ¿De qué tipo? (nombre comercial / principio activo / ficha técnica).			
34.- ¿Dispone la empresa de un plan de formación específico para los manipuladores según su puesto de trabajo?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
35.- ¿Se aplica de forma correcta la formación recibida en todos los procesos? Valoración global de la manipulación.			
Muy mal (1), Mal/Regular (2), Correcto (3), Bueno/Bien (4) o Muy bueno/Muy bien (5)			

DIAGRAMA DE FLUJO / ZONAS DE PROCESO			
ZONA I (Zona de descarga de animales y cuadras)			
Valoración del estado de diseño-conservación e higiene (de 1 a 5)			
Muy mal (1), Mal/Regular (2), Correcto (3), Bueno/Bien (4), Muy bueno/Muy bien (5)			
36.- Suelos-paredes-techos.			
Diseño	<input type="checkbox"/>	Higiene	<input type="checkbox"/>
37.- Puertas-ventanas-desagües.			
Diseño	<input type="checkbox"/>	Higiene	<input type="checkbox"/>
38.- Ventilación-iluminación.			
Diseño	<input type="checkbox"/>	Higiene	<input type="checkbox"/>
39.- Equipo-maquinaria-utensilios en contacto con los animales.			
Diseño	<input type="checkbox"/>	Higiene	<input type="checkbox"/>

40.- Otros equipos-maquinaria-utensilios que no estén en contacto con los animales.			
Diseño		Higiene	
41.- Instalaciones-útiles de limpieza y desinfección.			
Diseño		Higiene	
A.- ETAPA DE DESCARGA Y ANTE MORTEM.			
42.- ¿Los animales vienen correctamente identificados y documentados?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
43.- Valoración del estado de limpieza de los animales.			
Muy mal (1), Mal/Regular (2), Correcto (3), Bueno/Bien (4) o Muy bueno/Muy bien (5)			
44.- Valoración del grado de bienestar animal de los animales.			
Muy mal (1), Mal/Regular (2), Correcto (3), Bueno/Bien (4) o Muy bueno/Muy bien (5)			
45.- Valoración del estado de carnes de los animales.			
Muy mal (1), Mal/Regular (2), Correcto (3), Bueno/Bien(4) o Muy bueno/Muy Bien (5)			
46.- ¿Ausencia de enfermedades/lesiones externas?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
47.- ¿Vienen en ayunas?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
B.- ESTANCIA, CONDUCCION Y MANEJO HASTA EL SACRIFICIO.			
48.- ¿Disponen de medios técnicos adecuados para esta etapa?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
49.- ¿Disponen de un número de cuadras con capacidad suficiente para evitar el hacinamiento de los animales?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
50.- ¿Se limpian las cuadras tras la salida de cada lote?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
51.- ¿Se limpian con productos desinfectantes?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
52.- ¿De qué tipo? (nombre comercial / principio activo / ficha técnica).			
53.- ¿Disponen de duchas las cuadras?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
54.- ¿Cuál es el tiempo medio de permanencia en ellas?.			
< 1 hora	<input type="checkbox"/>	< 2 horas	<input type="checkbox"/>
		Más (especificar)	
55.- ¿Los manipuladores aplican correctamente la formación recibida?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
ZONA II (Zona de aturdimiento, sacrificio y sangrado) Valoración del estado de diseño-conservación e higiene (de 1 a 5) Muy mal (1), Mal/Regular (2), Correcto (3), Bueno/Bien (4), Muy bueno/Muy bien (5)			
56.- Suelos-paredes-techos.			
Diseño		Higiene	

57.- Puertas-ventanas-desagües.			
Diseño		Higiene	
58.- Ventilación-iluminación.			
Diseño		Higiene	
59.- Equipo-maquinaria-utensilios en contacto con canales.			
Diseño		Higiene	
60.- Otros equipos-maquinaria-utensilios que no estén en contacto con canales.			
Diseño		Higiene	
61.- Instalaciones / útiles de limpieza y desinfección.			
Diseño		Higiene	
62.- ¿La temperatura mínima del agua del esterilizador es >82,5°C?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
C.- ATURDIMIENTO, SACRIFICIO Y SANGRADO.			
63.- ¿Se realiza de manera correcta de tal forma que el aturdimiento sea adecuado y que los animales estén correctamente desangrados?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
<p><i>ZONA III (Zona de escaldado, depilado, latiguillos, chamuscado)</i> <i>Valoración del estado de diseño-conservación e higiene (de 1 a 5)</i> <i>Muy mal (1), Mal /Regular (2), Correcto (3), Bueno/Bien (4), Muy bueno/Muy Bien (5)</i></p>			
64.- Suelos-paredes-techos.			
Diseño		Higiene	
65.- Puertas-ventanas-desagües.			
Diseño		Higiene	
66.- Ventilación-iluminación.			
Diseño		Higiene	
67.- Equipos-maquinaria-utensilios en contacto con canales.			
Diseño		Higiene	
68.- Otros equipos-maquinaria-utensilios que no están en contacto con canales.			
Diseño		Higiene	
69.- Instalaciones-útiles de limpieza y desinfección.			
Diseño		Higiene	
D.- ESCALDADO.			
70.- ¿La temperatura del agua y el tiempo garantizan una depilación completa?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
71.- ¿A qué temperatura está el agua y cuál es el tiempo de permanencia/canal?.			

72.- ¿Con qué frecuencia se renueva el agua?.							
1 vez/día	<input type="checkbox"/>	2 veces /día	<input type="checkbox"/>	3 veces/día	<input type="checkbox"/>	Otros:	
73.- ¿Se evita la formación de condensados en el techo de la zona que pueden gotear sobre el producto y contaminarlo?.							
Sí	<input type="checkbox"/>					No	<input type="checkbox"/>
74.- ¿Se realizan análisis microbiológicos de agua?.							
Sí	<input type="checkbox"/>					No	<input type="checkbox"/>
75.- ¿Los resultados son correctos?.							
Sí	<input type="checkbox"/>					No	<input type="checkbox"/>
E.- DEPILADO, LATIGUILLOS, RASCADO, CHAMUSCADO.							
76.- ¿Se realiza un lavado completo con agua potable después del depilado?.							
Sí	<input type="checkbox"/>					No	<input type="checkbox"/>
<i>ZONA IV (Zona de evisceración y faenado de canales) Valoración del estado de diseño-conservación e higiene (de 1 a 5) Muy mal (1), Mal/Regular (2), Correcto (3), Bueno/Bien (4), Muy bueno/Muy Bien (5)</i>							
77.- Suelos-paredes-techos.							
Diseño					Higiene		
78.- Puertas-ventanas-desagües.							
Diseño					Higiene		
79.- Ventilación-iluminación.							
Diseño					Higiene		
80.- Equipos-maquinaria-utensilios en contacto con canales.							
Diseño					Higiene		
81.- Otros equipos-maquinaria-utensilios que no están en contacto con canales.							
Diseño					Higiene		
82.- Instalaciones-útiles de limpieza y desinfección.							
Diseño					Higiene		
83.- ¿La temperatura mínima del agua del esterilizador es >82,5°C?.							
Diseño					Higiene		
F.- LIGADURA DE RECTO Y ESOFAGO.							
84.- ¿La empresa dispone de un procedimiento higiénico de ligado de esófago y recto?.							
Sí	<input type="checkbox"/>					No	<input type="checkbox"/>
85.- ¿Cuál?.							
86.- ¿La ligadura se realiza de forma que impida la salida de heces?.							
	<input type="checkbox"/>					No	<input type="checkbox"/>

Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
G.- EVISCERACION.			
87.- Valoración de la manipulación durante la evisceración/faenado.			
Muy mal (1), Mal/Regular (2), Correcto (3), Bueno/Bien (4), Muy bueno/ Muy bien (5)			
88.- ¿Se manipula de manera que se evita la rotura del paquete intestinal?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
89.- ¿Los cuchillos se desinfectan de manera continua en los esterilizadores?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
90.- Valoración del estado de limpieza de la vestimenta del operario (delantales/guantes).			
Muy mal (1), Mal/Regular (2), Correcto (3), Bueno/Bien (4) Muy bueno/Muy bien (5)			
91.- ¿Existe un procedimiento de actuación ante una posible rotura o contaminación de la canal?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
H.- FAENADO DE CANALES (ESQUINADO/RECORTE/MARCADO/CLASIFICACION).			
92.- ¿El esterilizador de la sierra de corte funciona correctamente?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
93.- ¿Los manipuladores aplican correctamente la formación recibida?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
94.- Valoración del estado de limpieza de la vestimenta del operario (delantales/guantes).			
Muy mal (1), Mal/Regular (2), Correcto (3), Bueno/Bien(4) o Muy bueno/Muy bien (5)			
95.- ¿Dispone de un lavado final de canales?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
96.- ¿Se realizan análisis microbiológicos de canales en esta etapa?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
97.- ¿con qué frecuencia se realizan estos análisis?.			
Diario	<input type="checkbox"/>	Semanal	<input type="checkbox"/>
		Mensual	<input type="checkbox"/>
98.- ¿Los resultados son correctos?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
ZONA V (Zona de enfriamiento y refrigeración) Valoración del estado de diseño-conservación e higiene (de 1 a 5) Muy mal (1), Mal (2), Regular (3), Correcto (4), Muy bueno (5)			
99.- Suelos-paredes-techos (incluyen los de las cámaras).			
Diseño	<input type="checkbox"/>	Higiene	<input type="checkbox"/>
100.- Puertas-ventanas-desagües.			
Diseño	<input type="checkbox"/>	Higiene	<input type="checkbox"/>

101.- Ventilación-iluminación.			
Diseño		Higiene	
102.- Equipos-maquinaria-utensilios en contacto con canales.			
Diseño		Higiene	
103.- Otros equipos-maquinaria-utensilios que no están en contacto con canales.			
Diseño		Higiene	
104.- Instalaciones-útiles de limpieza y desinfección.			
Diseño		Higiene	
I.- ENFRIAMIENTO.			
105.- ¿La carne se enfría inmediatamente tras el sacrificio?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
106.- ¿Disponen de un proceso validado de enfriamiento?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
107.- ¿Cuánto tiempo tardan en alcanzar las canales la temperatura de 7°C?.			
108.- ¿A qué temperatura se encuentran las cámaras de refrigeración?.			
109.- ¿Se realiza control microbiológico de canales en esta fase?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
110.- ¿Los resultados son correctos?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
111.- Las canales pasan:			
A cámara	<input type="checkbox"/>	Carga inmediata	<input type="checkbox"/>
		Cámara de sala de despiece	<input type="checkbox"/>
112.- ¿Se controlan de forma adecuada los PCC?.			
- ¿Evisceración y faenado?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
- ¿Refrigeración?.			
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
Observaciones:			

