



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Determinación de la prevalencia de Salmonella spp. en lechones de Aragón

Determination of the prevalence of Salmonella spp. in piglets in Aragón

Autor/es

Beatriz Miguelena Chamorro

Director/es

Raúl C. Mainar Jaime
Alejandro Casanova Higes

Facultad de Veterinaria

2015/16

Índice

1. Resumen/Abstract.....	3
2. Introducción.....	5
▪ 2.1 <i>Salmonella</i> spp: Características generales y taxonomía.....	5
▪ 2.2 Infección de <i>Salmonella</i> en el ganado porcino.....	7
▪ 2.4 Medidas higiénico-sanitarias y epidemiología.....	8
3. Justificación y objetivos.....	11
4. Material y métodos.....	12
4.1 Diseño experimental.....	12
4.2 Toma de muestras.....	12
4.3 Análisis laboratoriales.....	12
4.4 Análisis estadísticos.....	14
5. Resultados y discusión.....	16
5.1 Prevalencia general.....	16
5.2 Tendencia temporal de la prevalencia.....	19
5.3 Serotipos involucrados.....	20
5.4 Relación entre infección y excreción.....	21
6. Conclusión.....	22
7. Valoración personal.....	24
8. Referencias bibliográficas.....	26

1. Resumen

España es el primer país de la Unión Europea en producción porcina y primero también en prevalencia de salmonelosis en esta especie animal. En breve, deberá reducir los niveles de prevalencia actuales ($\approx 30\%$) a los que determine la UE o verá comprometido su mercado internacional. Dada la ubicuidad de este patógeno, su gran persistencia ambiental, la dificultad de identificar los animales portadores, la alta prevalencia de resistencia a los antibióticos de *Salmonella* spp. y la ausencia de vacunas efectivas, el desarrollo de métodos de control sostenibles y basados en un conocimiento adecuado de la epidemiología de esta infección será de gran ayuda.

El objetivo de este proyecto es profundizar en el conocimiento de la epidemiología de la infección durante las primeras semanas de vida de los animales con el fin de valorar su posible papel en la infección durante las fases posteriores. Como objetivos más específicos este proyecto pretende:

1. Estimar la prevalencia de infección y excreción de *Salmonella* spp. en lechones procedentes de explotaciones infectadas y determinar su relación con la infección en las madres.
2. Evaluar el estado serológico de lechones procedentes de explotaciones infectadas por salmonelosis y su relación con la infección por *Salmonella* spp.

Para realizar este estudio se empleó la siguiente metodología: En el matadero, se realizó el muestreo de lechones. Se recogieron muestras de heces del intestino grueso, ganglios linfáticos mesentéricos y la base del diafragma. El proceso de las muestras se realizó conforme la norma ISO 6579:2002 para determinar la existencia de infección y/o excreción de *Salmonella* spp., la cual emplea medios de cultivo selectivos y una última etapa de confirmación bioquímica. Con el exudado del diafragma queremos evidenciar la presencia de anticuerpos frente a *Salmonella* spp, realizando una prueba de ELISA indirecto.

Se utilizaron las mismas técnicas para analizar heces y suero de las madres.

Abstract

“Determination of the prevalence of *Salmonella* spp in piglets in Aragón”

Spain is the second country in swine production of the European Union and the first one with the highest prevalence of this animal species. Shortly, Spain will have to reduce the current levels of prevalence ($\approx 30\%$) to the ones that will determine the EU or it will compromise its international market. As this pathogen is very ubiquitous, it has a high environmental persistence, it is difficult to identify carrier animals, it has a big antibiotic resistance and there are not effective vaccines, the development of sustainable methods of control and based on an adequate understanding of the epidemiology of this infection will be a big help.

The objective of this project is to clarify the epidemiology of the infection during the first weeks of life of the animals in order to assess their role in infection during subsequent phases. The main objectives of this project are:

1. To estimate the prevalence of infection and excretion of *Salmonella* spp. in the piglets from infected farms and to determine its relationship with infection in mothers.
2. Evaluate the serological status of piglets from farms infected by *Salmonella* and their relationship with the infection.

For this study we used the following methodology:

At the slaughterhouse, is performed the pig sampling. Feces samples from the large intestine, mesenteric lymph nodes and the base of the diaphragm are collected. The process of the samples is performed according to ISO 6579: 2002 to determine the existence of infection and/or excretion of *Salmonella*, which employs selective culture media and then a last stage of biochemical confirmation. With the exudate of the diaphragm we show the presence of antibodies against *Salmonella* spp, performing an indirect ELISA test.

The same procedure is done with the mothers, analyzing their feces and blood.

2. Introducción

En los países desarrollados la salmonelosis está considerada una de las infecciones con mayor prevalencia de entre las transmitidas al hombre por alimentos contaminados y es una de las principales causas de mortalidad debido a intoxicaciones alimentarias. Dentro de la Unión Europea la salmonelosis es la segunda causa más frecuente de problemas gastrointestinales en humanos, por detrás de la campilobacteriosis, siendo de declaración obligatoria en 16 de los 28 miembros (EFSA,2015).

La salmonelosis humana no tifoidea se caracteriza por la aparición de fiebre, dolor abdominal, náuseas e incluso vómitos, aunque suelen ser unos síntomas leves pueden ser un problema para niños, ancianos y personas inmunodeprimidas siendo necesario un tratamiento antibiótico (Gordon,2008).

Esta infección está causada por la bacteria *Salmonella spp* y sus portadores son principalmente las aves y el ganado porcino. Debido a que estas especies animales son destinadas a consumo humano, la presencia de *Salmonella* en carne y derivados conlleva a un problema en salud pública dando como resultado la necesidad de controlar su prevalencia en el ganado de producción animal así como su transmisión a lo largo de la cadena alimentaria. Para ello es importante conocer sus características.

2.1. *Salmonella spp*: características y taxonomía

Las bacterias del género *Salmonella* son Gram negativas (-), anaerobias facultativas, asporógenas, de forma bacilar y generalmente móviles, gracias a la presencia de flagelos. La mayoría presentan una serie de características comunes, como la capacidad de producir ácidos a partir de la utilización de la glucosa y de reducir los nitratos a nitritos, ser catalasa positivas y oxidasa negativas. Además, utilizan el citrato como única fuente de carbono, descarboxilan la lisina, la arginina y la ornitina y producen sulfuro de hidrógeno. Son capaces de tolerar altas concentraciones de sales biliares y de crecer en presencia de colorantes como la eosina, la fucsina, el azul de metileno o el verde brillante, entre otros (ICSMF 1998).

Salmonella se agrupa en dos especies principales: *S. enterica* y *S. bongori*. *Salmonella enterica* se subdivide a su vez en seis subespecies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. La mayoría de las cepas de interés sanitario son de la especie *S. entérica* (Schultz, 2008). Cada subespecie se subdivide en serogrupos según la composición de los antígenos de su pared bacteriana (polisacárido somático O). Hasta la fecha se conocen alrededor de medio centenar de serogrupos diferentes. Cada serogrupo se subdivide a su vez en serovariedades o serotipos, según las características de sus antígenos capsulares (H) y flagelares (Vi) (Grimont PAD y Weill F-X et al., 2007).

Son bacterias ubicuas, presentes en todo el mundo, y pueden ser aisladas en numerosos reservorios animales. Se encuentran en el tracto intestinal del hospedador y se eliminan por las heces de forma intermitente. Los individuos infectados suelen ser asintomáticos pero el problema recae en su excreción ya que diseminan la bacteria en el ambiente.

Por otra parte, fuera del hospedador presentan una gran resistencia (periodos de supervivencia de hasta 13 meses), pudiendo soportar un gran rango de temperaturas (7-47°C), así como su capacidad para crecer en un pH bajo o en actividades de agua superiores a 0,94 (Mitscherlich y Marth, 1984; Pass, 1985; Wray y Todd, 1987). De esta manera, aunque el hábitat natural de este género estaría limitado al tracto digestivo de personas y animales, su resistencia para sobrevivir en diferentes nichos ambientales sugiere que debería aceptarse como un organismo ambiental cuya diseminación es probable que continúe e incluso se incremente en el futuro (Farmer et al., 2009).

Todo esto complica la situación ya que facilita la entrada de la bacteria en la explotación por diferentes vía y a la vez dificulta su eliminación, junto con la gran variabilidad que muestra la infección dentro de una misma explotación. Es por eso que es importante controlar la transmisión entre los animales, así como maximizar las actuaciones de limpieza y desinfección (Murray, 2000).

Durante los últimos años, el control y la erradicación de *Salmonella* se ha centrado en el ganado aviar, lo que ha producido una reducción de su incidencia zoonótica y al mismo tiempo un aumento proporcional de la importancia del ganado porcino en esta transmisión. De esta

manera, los casos de salmonelosis han descendido, especialmente por la reducción de *S. Enteritidis* (asociada a aves) y simultáneamente ha aumentado el número de casos provocados por *S. Typhimurium* (predominante en cerdo y otras especies como el vacuno). Ello ha provocado la necesidad de aumentar su control en el ganado porcino, ya que en la actualidad esta especie se considera la segunda fuente más importante de infección y se estima que al menos un 30% de los cerdos de cebo están infectados en España (EFSA 2015).

2.2 Infección en el ganado porcino

Los cerdos son susceptibles a diferentes serotipos de *Salmonella*, aunque el 90% de los casos clínicos están causados por *S. Choleraesuis* y *S. Typhimurium*. El primer serotipo es poco común en Europa y suele estar asociado a síntomas clínicos, en cambio *S. Typhimurium*, así como la mayoría de los otros serotipos, cursan de manera asintomática, por lo que se comportan como reservorios. Portan la bacteria en tonsilas, tracto intestinal y ganglios linfáticos mesentéricos, y no se detectan en las inspecciones rutinarias de los mataderos.

La principal ruta de infección de los animales es por vía oral, tras el contacto con heces de individuos infectados, aunque también es posible la vía aerógena (Fedorka-Cray et al.,1995; Proux et al.,2001). Cuando el cerdo entra en contacto con altas dosis de bacterias, éstas pueden superar la acidez del estómago así como la acción bacteriostática de las sales biliares y alcanzar el intestino delgado donde invaden los ganglios linfáticos mesentéricos y se acantonan (Hurd et al.,2001).

Tal y como se ha dicho anteriormente, suele cursar de manera subclínica y localizarse en estos ganglios, pero pueden haber otros casos donde evadan las defensas intracelulares, pasen a sangre, se multipliquen en los macrófagos y de esta manera llegar al hígado, bazo, pulmones, etc., provocando una infección generalizada y septicemia. En los casos subclínicos, la excreción, la cual es intermitente, se ve favorecida por el estrés, en situaciones como la mezcla de animales o durante el transporte, la multiplicación y eliminación de bacterias aumentará, por eso los portadores asintomáticos son una de las principales fuentes de salmonelosis (Berends et al.,1996).

Dependiendo del serotipo causante, la infección se puede expresar de diferentes formas. Por una parte, el serotipo Choleraesuis se asocia a septicemia, los síntomas se inician entre 24-36 horas tras la infección y se caracterizan por inapetencia, un estado letárgico y fiebre junto con problemas respiratorios. La diarrea suele aparecer a partir del cuarto o quinto día y en la necropsia se observa colitis. Es más común en cerdos destetados y en cebo, pero es una infección infrecuente en Europa a diferencia de las explotaciones norteamericanas que sufren un importante problema con este serotipo.

En cambio, *S. Typhimurium* es muy frecuente en el ganado porcino europeo (siendo responsables de un 40% de las infecciones porcinas). Cursan de forma asintomática y no son reconocibles ni en el cebadero ni en el matadero pero la presencia de cepas de mayor virulencia o de situaciones de inmunodepresión, puede llegar a causar graves problemas como el síndrome enterocolítico. El signo inicial es una diarrea acuosa y amarilla presentando un estado de inapetencia, letargia y fiebre. La mortalidad suele ser baja pero la morbilidad es alta, observando en la necropsia una colitis necrótica así como los ganglios linfáticos mesentéricos infartados y zonas enrojecidas en la mucosa intestinal (Althouse et al., 2003).

2.3 Medidas higiénico-sanitarias y epidemiología

Al ser una patología que suele cursar de manera subclínica, pasa desapercibida y entra en la cadena de producción, acabando en el matadero. Esto supone la necesidad de establecer unas medidas sanitarias para controlar las bacterias. No se dispone de vacunas suficientemente eficaces para proteger a la población porcina (Meeusen et al., 2007) lo que significa que se debe implantar un programa de vigilancia y control que se debe basar en:

- Pruebas de diagnóstico con elevada sensibilidad y especificidad.
- Información sobre la prevalencia de infección, mediante una correcta recolección de datos.
- Conocimiento de las características de la bacteria en el ambiente para poder aplicar medidas de control.

Para cumplir el último paso se deben controlar diferentes factores. Por ejemplo, la reposición requiere de una adecuada cuarentena y una toma de contacto de los nuevos individuos a los patógenos de la explotación. Por otra parte, también es conveniente minimizar el número de orígenes de los animales que acaban en una misma nave de engorde, así como la entrada de vectores que puedan transmitir la enfermedad creando barreras.

Otro punto importante dentro de las medidas higiénicas al cambiar de lote, sería la realización de una exhaustiva limpieza y desinfección (sistema Todo dentro / Todo fuera) para eliminar el máximo de bacterias que queden en el ambiente.

También existen controles en la alimentación para evitar su aparición, como el tipo de pienso, siendo el pienso granulado más el que parece favorecer más la infección y las harinas, alimentos fibrosos o la adición de ácidos los que parecen evitar su aparición (Berends et al., 1998; Julie Funk et al 2010).

Para establecer unas correctas medidas es necesario conocer su prevalencia en las diferentes fases de producción. Algunos sugieren que la nueva ley de bienestar que impone el alojamiento de las cerdas gestantes en grupo incrementa la diseminación de la bacteria y por otro lado, en las parideras es donde se observa mayor incidencia ya que se incrementa al estrés al cambiar de ambiente.(Poza, 2012)

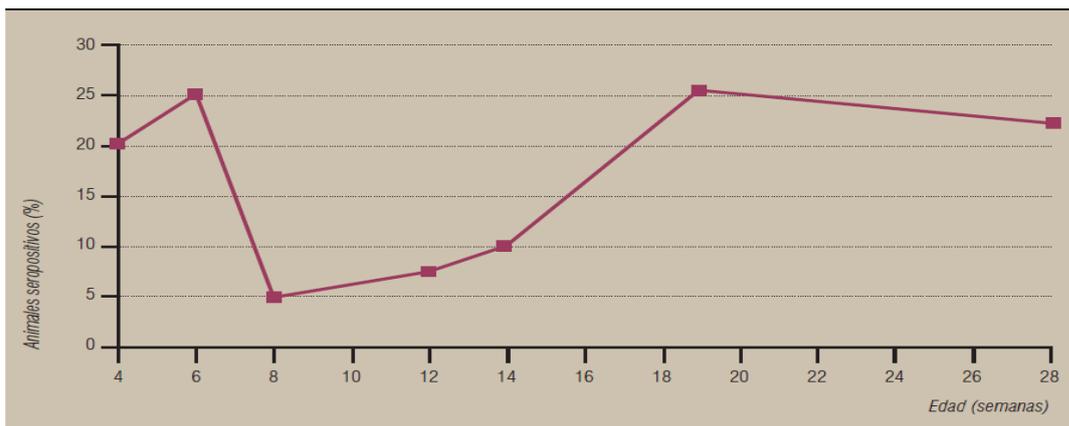


Figura 1: Evolución serológica de la infección por Salmonella en animales de transición y engorde. (Creus y Mainar, 2010)

Actualmente, se pueden encontrar diversos estudios sobre su prevalencia en cebo [Figura 1] pero su epidemiología en los primeros días de vida no está clara. Por otra parte, las reproductoras tienen mucha importancia en la infección por su papel transmisor a la descendencia, los cuales irán posteriormente al cebo y consumo humano (Beloeil et al., 2003).

En la figura 2 se explica evolución de los niveles de seroprevalencia en las diferentes fases de producción. En la transición los animales empiezan a infectarse de nuevo sobre las 8 semanas, ya que se cree que es cuando pierden los anticuerpos maternos. Durante la fase de engorde, el nivel de seroprevalencia comienza a elevarse al final del 1er tercio, alcanzando los mayores niveles de seroprevalencia en el 2º y 3er tercio del periodo de cebo, aumentando hasta el final a la llegada a matadero. Durante la fase de recría, el nivel de seroprevalencia es igual o mayor, unido además a un ambiente posiblemente contaminado debido a los anteriores ciclos productivos. Sin embargo, no existe bibliografía suficiente sobre la prevalencia durante la fase parto y lactación, cuando los lechones están en contacto directo con la madre.

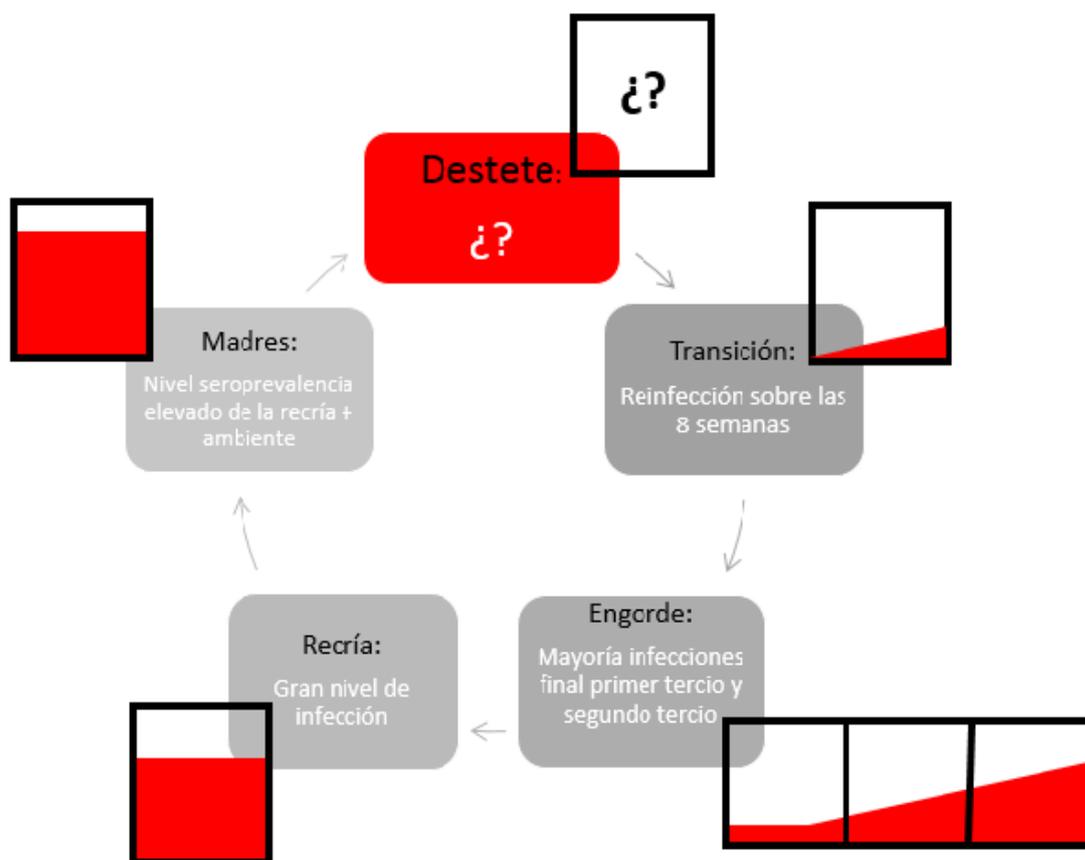


Figura 2: Evolución de la seroprevalencia en las diferentes fases

3. Justificación y objetivos

Los escasos estudios realizados hasta el momento describen una prevalencia de infección por *Salmonella* spp. en lechones variable y generalmente baja (entre el 0% y el 9%). Estos resultados están basados fundamentalmente en técnicas de muestreo poco eficaces, pues la toma de muestras se suele realizar con hisopos rectales. Este tipo de muestra presenta una baja sensibilidad para el aislamiento de *Salmonella* dada la escasa cantidad de materia fecal analizada.

En España, a diferencia de los países del resto de Europa, existe la costumbre de destinar el lechón para el consumo (conocido como cochinitillo), por lo que la ventaja de este trabajo frente a otros radica en la posibilidad de obtener diferentes tipos de muestras, como nódulos linfáticos mesentéricos, a partir del eviscerado en el matadero.

Así, el principal objetivo de este trabajo es estudiar la epidemiología de esta infección durante el periodo de lactación en lechones procedentes de explotaciones positivas a *Salmonella*. En particular, se pretende:

1. Estimar la prevalencia de infección y excreción de *Salmonella* spp. en lechones procedentes de explotaciones infectadas y determinar su relación con la infección en las madres.
2. Evaluar el estado serológico de lechones procedentes de explotaciones infectadas por salmonelosis y su relación con la infección por *Salmonella* spp.

4. Material y métodos

4.1 Diseño experimental

Para el estudio se eligieron cinco granjas, todas ellas en la provincia de Zaragoza y dentro de una de las zonas de mayor densidad de ganado porcino en España y Europa.

Las granjas seleccionadas fueron analizadas previamente para conocer el nivel de infección por *Salmonella* en cerdas reproductoras. Se realizó un análisis de suero sanguíneo mediante un kit ELISA indirecto, dando como resultado que más del 50% de las cerdas reproductoras eran positivas a la infección por *Salmonella* (punto de corte elegidos %DO>40, considerándolas como granjas de alta prevalencia).

4.2 Toma de muestras

Se seleccionaron solo lechones destetados machos, ya que las hembras eran destinadas a futuras reproductoras. Las edades de los lechones oscilaban entre 4 semanas, donde solo se han alimentado con leche materna, y 6 semanas, donde han sido suplementados con pienso de iniciación. En el matadero se recogían los paquetes intestinales de los lechones para su posterior análisis en el laboratorio. A su vez, se recogieron heces de las madres de los lechones para identificar los principales serotipos de *Salmonella* excretados por las madres y su relación con los serotipos identificados en los lechones.

4.3 Análisis laboratoriales

En el laboratorio, los paquetes intestinales de cada lechón eran procesados para extraer las diferentes muestras.

Por una parte, se extrajo jugo muscular del músculo diafragmático que se utilizó para la detección de anticuerpos específicos frente a *Salmonella* spp mediante el ELISA indirecto (Herdcheck *Salmonella*, Laboratorios IDEXX). ELISA son las siglas por las que se conoce al ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (Enzyme-linked Immunosorbent Assay). Las pruebas de ELISA indirecto permiten detectar anticuerpos específicos frente a un determinado microorganismo mediante reacciones antígeno-anticuerpo que son puestas en evidencia por

una enzima activada en presencia de ese tipo de unión. Los resultados de esta técnica se basan en la medida de la densidad óptica (DO) de la reacción con respecto a unos sueros control (porcentaje de DO o %DO). Un suero se consideró positivo si presentaba un %DO \geq 20.

Por otra parte, se extrajeron manualmente nódulos linfáticos mesentéricos y heces del intestino grueso para la detección de *Salmonella* spp. El análisis microbiológico se realizó siguiendo la norma ISO 6579/2002. Antes de empezar el proceso se flamearon y trituraron los nódulos linfáticos que fueron posteriormente diluidos en agua de peptona tamponada (APT) a temperatura ambiente e incubados a 37°C \pm 1°C durante 18h \pm 2h. El segundo paso consistió en el enriquecimiento en medio semisólido selectivo, donde se siembra la muestra en placas de agar Rappaport-Vassiladis semisólido modificado (MSRV) a 41,5°C \pm 1°C durante 24h \pm 3h, donde *Salmonella* spp aprovecha las características del medio para su movilidad. Si la muestra es negativa se vuelve a incubar otras 24h. A partir del cultivo anterior se siembran dos medios sólidos selectivos, agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) y cualquier otro medio selectivo complementario, en este caso se utilizó agar verde brillante (BGA) y se incuban a 24h \pm 3h a 37°C \pm 1°C. En el medio XLD identificaremos a los positivos por el precipitado negro que se produce por el tiosulfato sodio y citrato férrico amonio en contacto con *Salmonella* spp y el medio BGA que inhibe un gran número de Gram positivas, nos indica la presencia de la bacteria cuando vemos colonias traslúcidas, ligeramente rojas a rosa con halo rojo brillante.

A continuación, la identidad de la bacteria aislada se confirma mediante pruebas bioquímicas. Estas pruebas son:

- Prueba del indol: determina la capacidad de degradar el triptófano y producir indol, que es detectado tras añadir el reactivo de Kovacs. Esta prueba es negativa para *Salmonella*, no observándose cambio de color.
- Descarboxilación de Lisina: detecta bacterias con enzimas descarboxilasas. *Salmonella* es positiva y se observa en la muestra un cambio de color a púrpura. Agar urea: Se utiliza la urea como fuente de carbono, donde el indicador Rojo Fenol vira de amarillo claro a rosado. Debe ser negativo.
- Agar triple azúcar de hierro (TSI): Donde se pueden estudiar diferentes reacciones, como la degradación de glucosa (+), lactosa (-), sacarosa (-) y la formación de un precipitado negro por la producción de sulfhídrico.

El análisis de las heces se realiza siguiendo el mismo proceso y tras su dilución 1/10 en agua de peptona tamponada.

Finalmente, las muestras positivas confirmadas mediante la bioquímica se envían a serotipar al Laboratorio Nacional de Referencia para la Salmonelosis Animal (Algete, Madrid).

4.4. Análisis estadísticos

Las comparaciones entre las distintas categorías se realizaron mediante análisis univariados de *Chi-cuadrado*. El nivel de significación se estableció en $p \leq 0,05$.

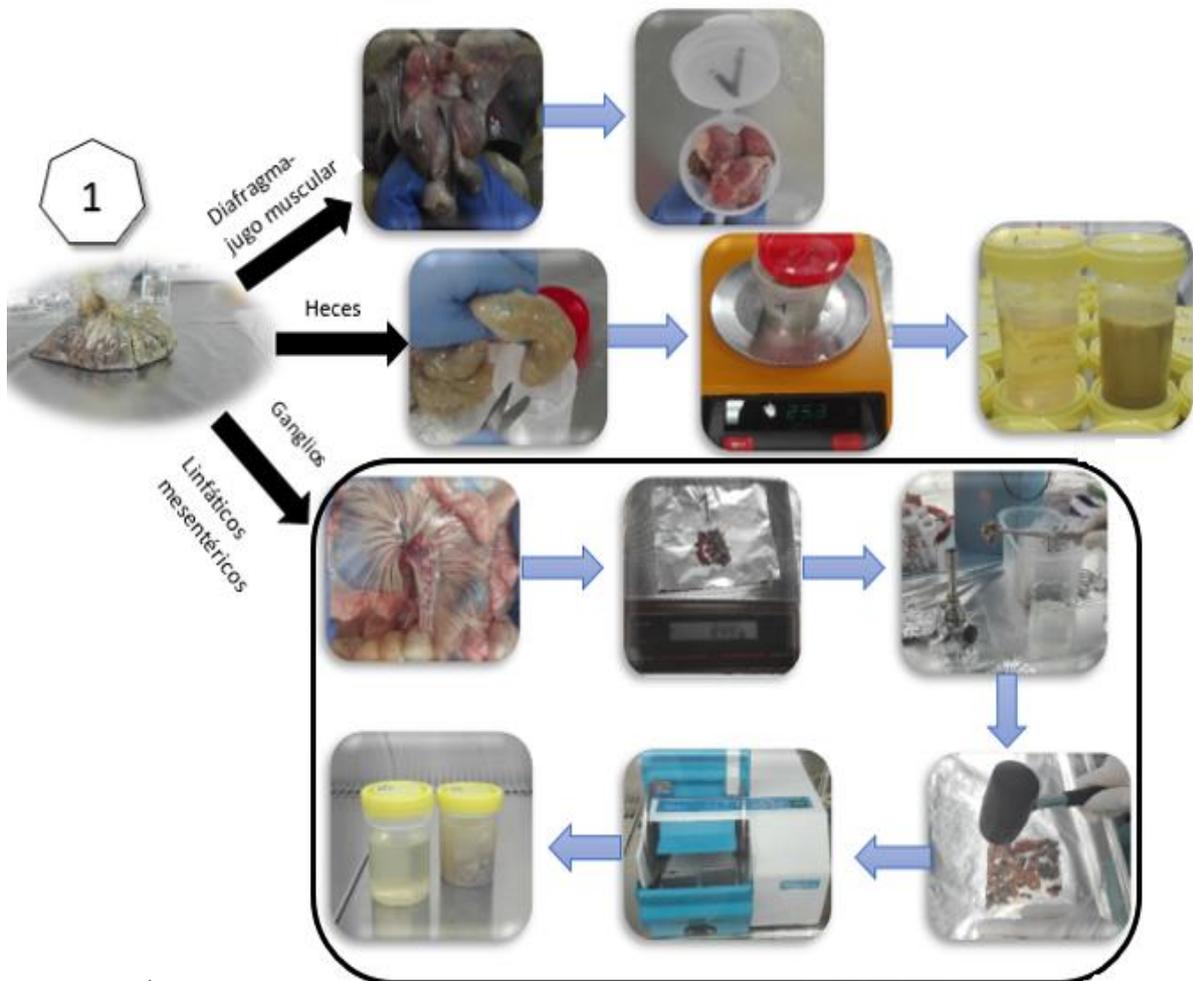


Figura 3: El primer paso es la recogida del músculo diafragmático y a continuación la extracción de los nódulos linfáticos mesentéricos, dejando las heces al final para no contaminar el paquete digestivo. Después de preparar los nódulos linfáticos se sumergen en agua de peptona como las heces. Por otra parte, se deja el diafragma en el recipiente para sacar el juego muscular y poder realizar la serología.

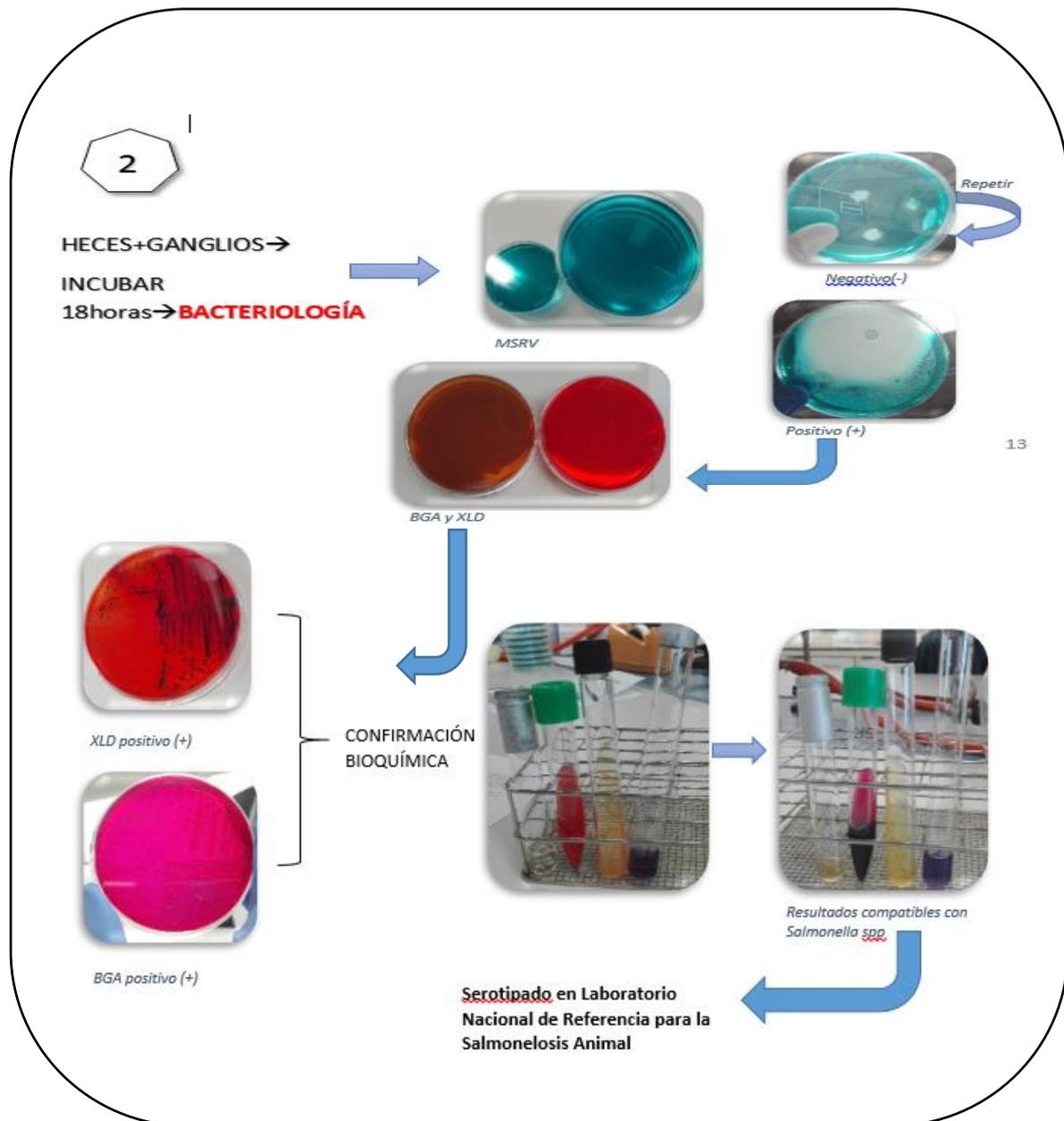


Figura 4: Pasos de la bacteriología realizada a las heces y ganglios

5. Resultados y discusión

5.1 Prevalencia general

Se analizaron un total de 739 lechones procedentes de 5 granjas elegidas por su alta seroprevalencia en las reproductoras. A continuación se observa en la figura 6 que todas ellas presentaban una alta seroprevalencia, cercana o mayor al 50%, destacando la granja D con un 83%.

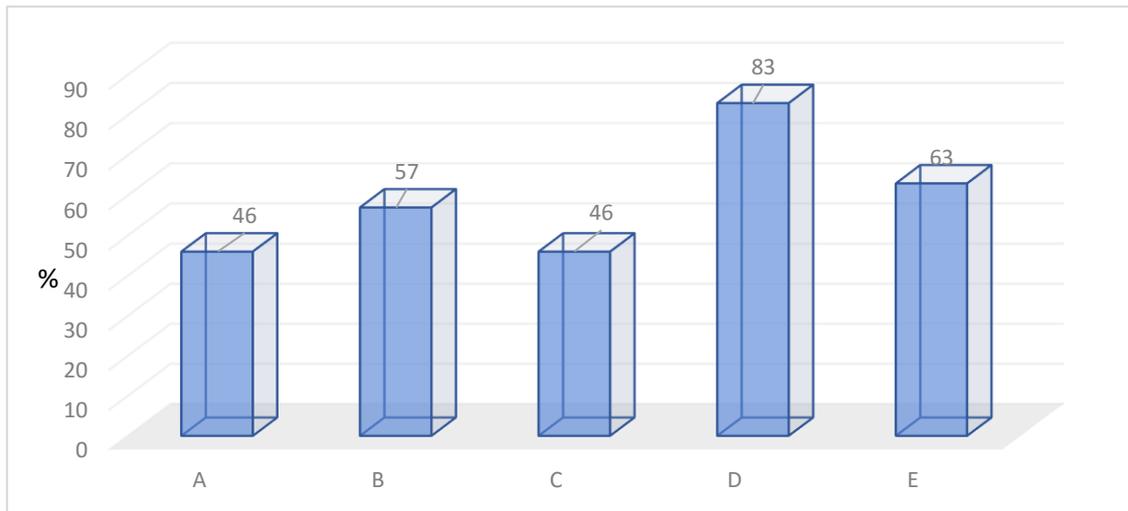


Figura 6: Seroprevalencia de madres por granja (punto de corte seleccionado en %DO>40)

Se observó una prevalencia general de infección (en nódulos linfáticos mesentéricos) del 33,4 % y de excreción (en heces) del 34% (Figura 7).

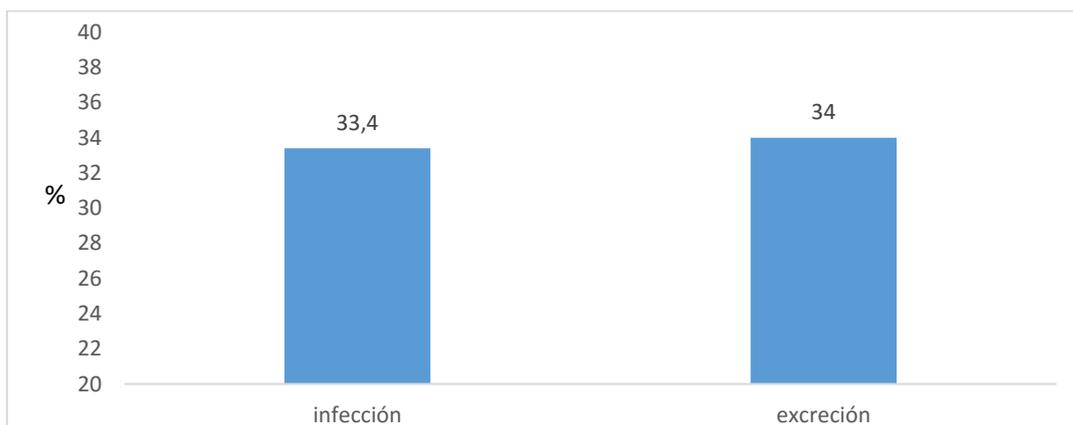


Figura 7: prevalencia de infección y excreción en lechones

La prevalencia de excreción del 33,4% en las granjas analizadas era muy superior a lo publicado hasta ahora en lechones de estas edades (inferior al 10%; Funk et al, 2000), lo cual esté posiblemente asociados con la mayor sensibilidad del protocolo utilizado, pues se analizó una mayor cantidad de heces. Además, los resultados fueron muy parecidos a los observados en nódulos linfáticos mesentéricos, lugar donde se acantona la bacteria y prueba irrefutable de infección. La prevalencia también pudo ser superior debido a la selección de granjas claramente positivas a *Salmonella*.

En la figura 8 se presentan las diferencias de infección y excreción entre las diferentes granjas. Aunque en general, no hay grandes diferencias entre explotaciones, se observó una significativa mayor prevalencia de infección en la granja D (59%) y menor prevalencia de excreción en la granja B (22%), con respecto a la media de las explotaciones ($p < 0,01$).

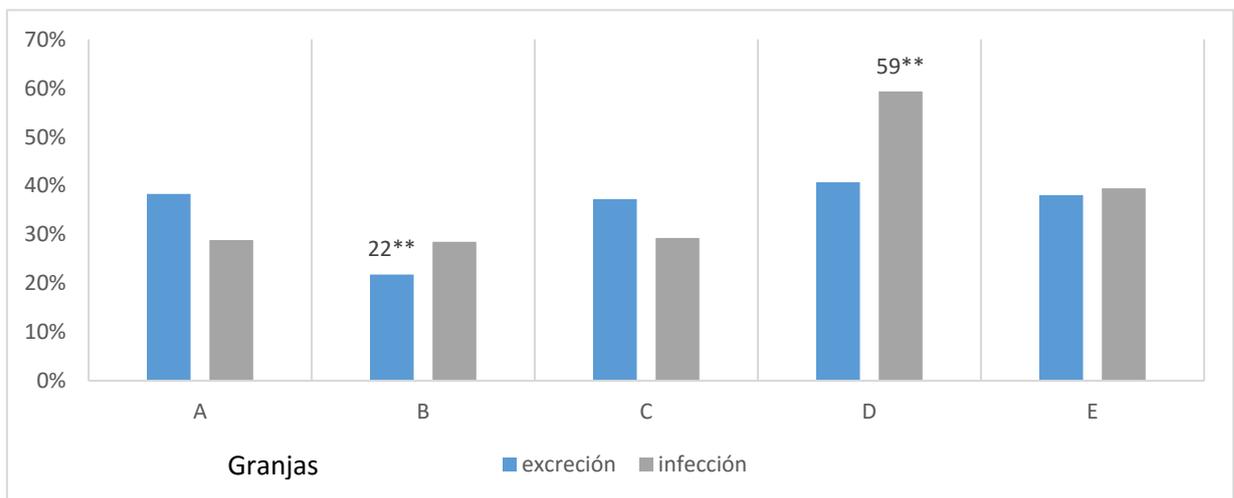


Figura 8: Prevalencia de infección y excreción en las diferentes granjas.

Un total de 405 lechones se sacrificaron a las 4 semanas de vida y 334 a las 6 semanas. Se evidenció una diferencia de prevalencia tanto de infección como de excreción según la edad, siendo más elevadas en los lechones de 6 semanas de vida (39,2% y 38,6% respectivamente) (Figura 4).

Estas diferencias podrían estar relacionadas con los niveles de anticuerpos calostrales presentes en los cerdos de 4 y 6 semanas de vida. Por ello se estudió la seroprevalencia en los lechones de 4 y 6 semanas de vida. Como se puede observar en la figura 5, el porcentaje de animales seropositivos fue significativamente superior en los animales de 4 semanas de vida, lo que es compatible con una mayor cantidad de anticuerpos protectores.

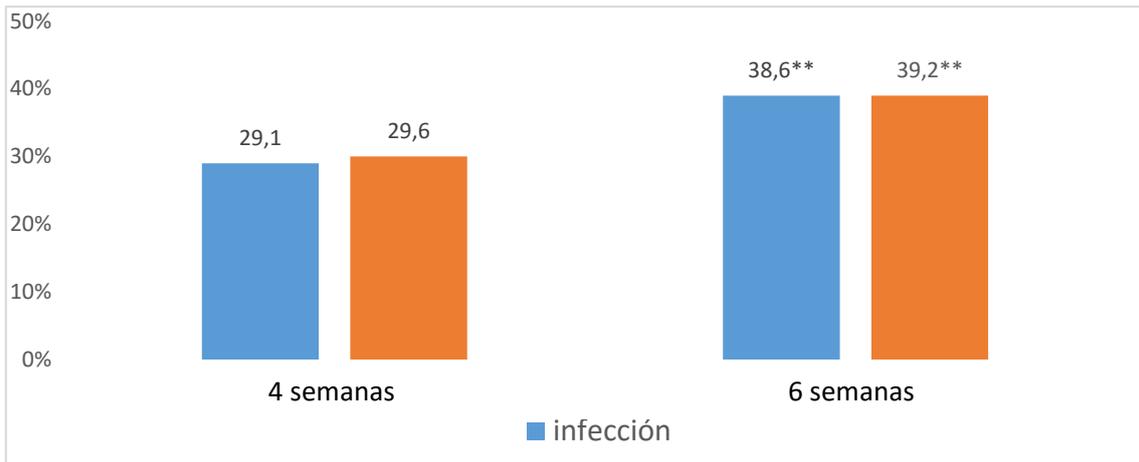


Figura 9: Prevalencia de infección y excreción en lechones de 4 y 6 semanas de vida

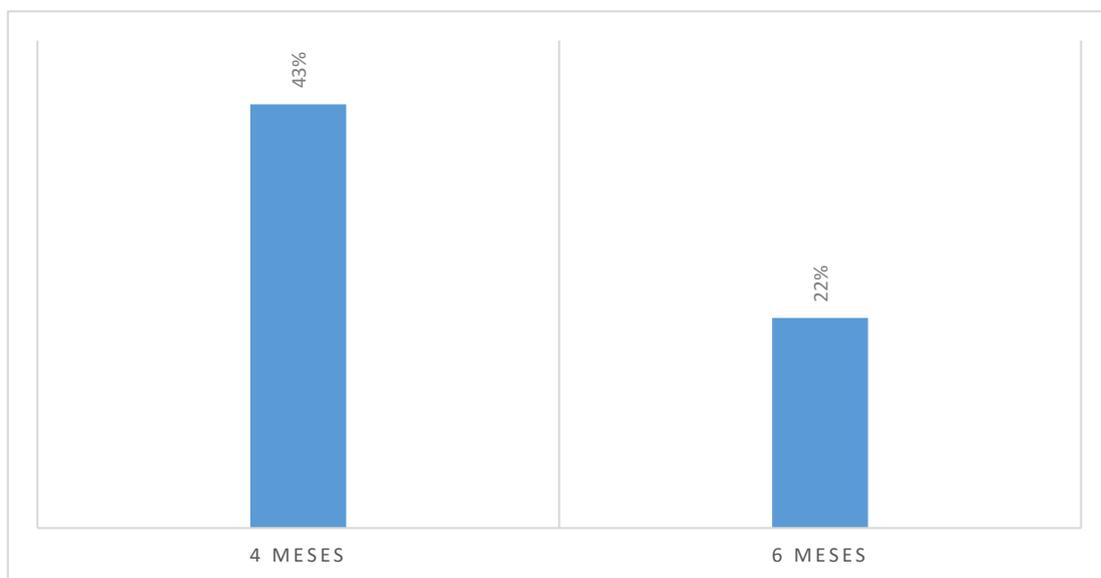


Figura 10: Seroprevalencia en lechones de 4 y 6 semanas de vida (punto de corte seleccionado %DO>20)

A través del calostro, durante las primeras semanas de vida, los anticuerpos calostrales (inmunidad pasiva) protegen al lechón. Con estos datos, podemos observar que esta inmunidad va reduciendo sus niveles sobre las 4 semanas, y es por lo que se observaría una mayor probabilidad de infección a partir de este momento. En estas explotaciones la duración de la inmunidad maternal se reduciría a menos de 4 semanas, cuando lo habitual era considerar que alcanza hasta las 8 semanas de edad (Pluske,2015).

5.2 Tendencia temporal de la prevalencia

Se estudió también la evolución de la infección/excreción según la época del año, se observa un porcentaje de infección y excreción más elevados en verano (58% y 48% respectivamente) (Figura 10).

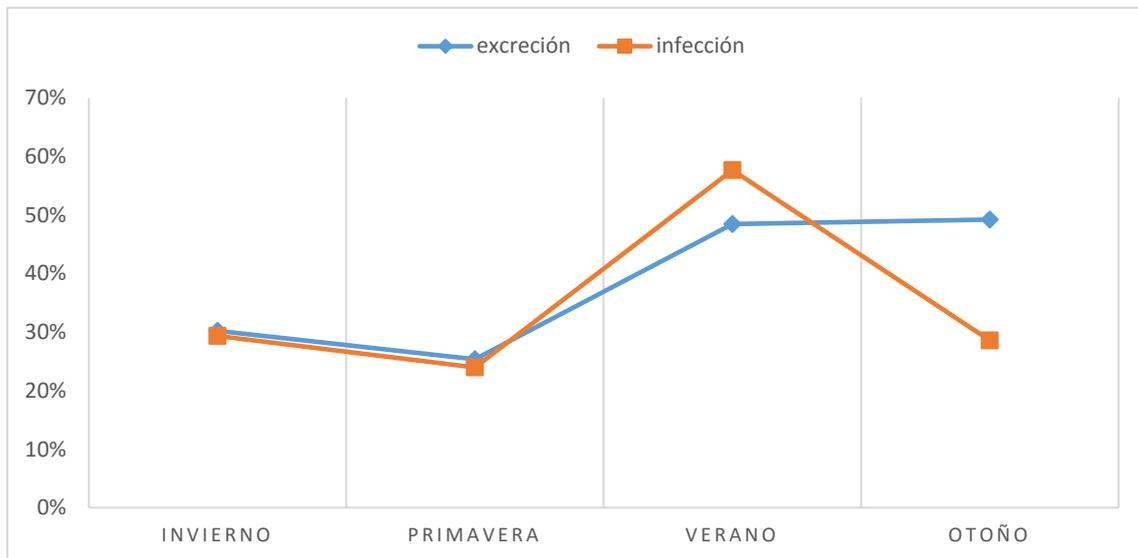


Figura 11: Variación de la prevalencia de infección y excreción durante las estaciones del año.

En relación a este dato, haciendo referencia a las temperaturas de confort correspondientes a la edad estudiada ($\approx 25^\circ$), podemos relacionarlo con el estrés térmico del animal y su incidencia en los niveles de infección. En verano se alcanzan temperaturas muy elevadas en España (en Aragón una media de 27° en verano, llegando a 36°), lo cual es superior a la temperatura adecuada para el lechón destetado, por lo que le causa un estrés al animal y reduce su inmunidad y está más sobreexpuesto a la infección.

También la bacteria *Salmonella* soporta un gran rango de temperaturas ($7-47^\circ$), y se multiplica más fácilmente con temperaturas que rondan los 30°C .

Por eso, es importante para esta época del año disponer de un buen sistema de ventilación y acondicionamiento de las maternidades ("coolings"), reducir las densidades de animales por corral para reducir el estrés por hacinamiento y mantener unos altos niveles de higiene.

5.3 Serotipos involucrados

Se serotiparon salmonelas procedentes tanto de las heces (251) como de los nódulos linfáticos (247) de los lechones, así como aquellas procedentes de las heces de las madres (86). *Salmonella* Rissen fue el serotipo más común tanto en madres como en lechones (37% y 31% respectivamente).

De los serotipos encontrados en los lechones, un 69% eran comunes con las madres (Figuras 6 y 7), lo que sugería el importante papel que tienen las madres en la infección de sus lechones y la necesidad de reducir la excreción en las primeras.

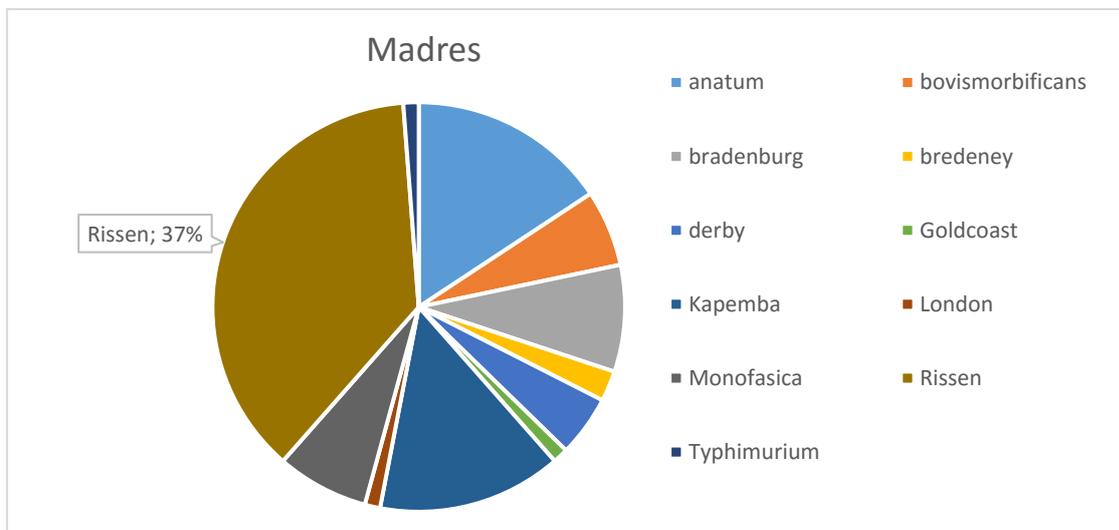


Figura 11: Prevalencia de los diferentes serotipos en madres.

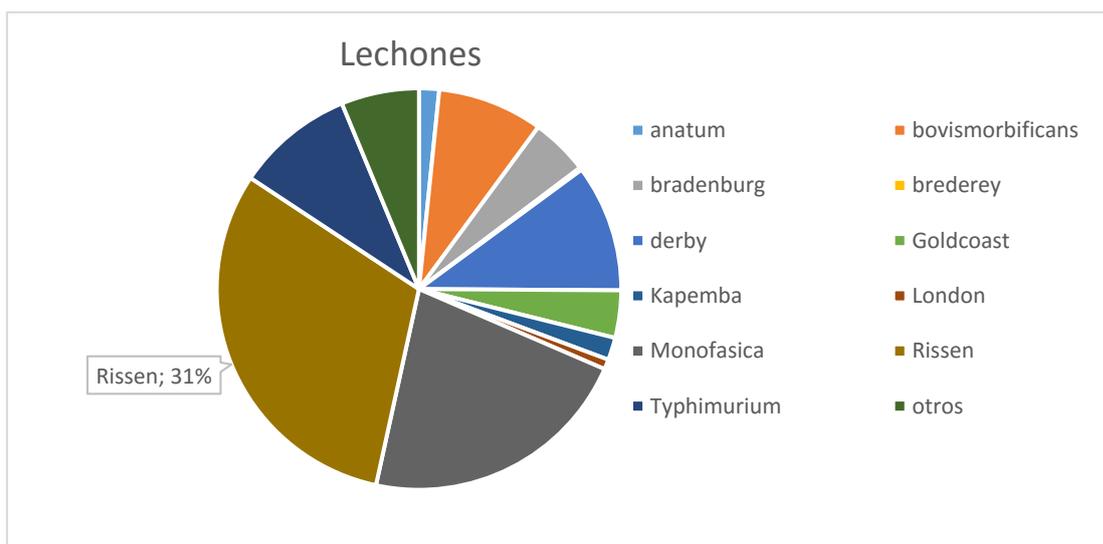


Figura 12: Prevalencia de los diferentes serotipos en los lechones

5.4 Relación entre infección y excreción

Por último, se evaluó la relación entre infección y excreción. Se observó un alto porcentaje de excreción entre los lechones infectados (67%). Por el contrario, en los no infectados el porcentaje de excretores fue significativamente inferior (17%).



Figura 13: Prevalencia de excreción en lechones infectados



Figura 14: Prevalencia de excreción en lechones no infectados

El hecho de que en un 33% de los animales infectados no se pudiera demostrar la presencia de *Salmonella* en heces sugería bien una falta de sensibilidad de la bacteriología realizada, o probablemente el carácter intermitente de la excreción de *Salmonella* en estos animales. Ello justificaría también la escasa prevalencia de excreción observada en estudios anteriores basados en el análisis de hisopos rectales.

En los casos donde existía excreción pero no infección permite suponer la existencia de otros lugares de acantonamiento de la bacteria o la posibilidad del paso de la bacteria por el tracto digestivo del lechón sin llegar a establecerse, quizás por la presencia de anticuerpos ingeridos con la leche, principalmente IgAs.

6. Conclusión

La *Salmonella* es una bacteria entérica de carácter zoonótico distribuida universalmente. Debido a la importancia de la salmonelosis humana en los países desarrollados, se requieren medidas para su control. El ganado porcino se considera la segunda fuente de infección para las personas y el control de la salmonelosis porcina requiere un buen conocimiento de su epidemiología. Este estudio se ha centrado en conocer la dinámica de infección de *Salmonella* spp. en las primeras semanas de vida de los lechones. Los resultados obtenidos sugieren que:

1. La prevalencia de infección por *Salmonella* spp. en lechones de 4 a 6 semanas es muy elevada (33'4%) y mayor que la esperada de acuerdo con publicaciones previas, siendo la prevalencia superior en lechones de 6 semanas que en 4, lo cual sugiere una falta de protección a las 6 semanas de edad, cuando la inmunidad propia del animal está todavía en desarrollo. Esto supone la necesidad de incrementar las medidas que favorezcan el encalostramiento adecuado de los lechones, así como una mejora de la higiene y sanidad en las maternidades.
2. La infección era más prevalente en el verano, evidenciando el efecto de las altas temperaturas en los lechones, probablemente debido al estrés térmico asociado con la época y a la mayor resistencia ambiental de la bacteria. Ello sugiere la necesidad de mejorar las condiciones ambientales de las maternidades en esta época del año.
3. La relación de infección entre madres y lechones se puede justificar por la alta proporción de serotipos en común, aunque se requerirán estudios más detallados (caracterización genética) para confirmarla.

Conclusion

Salmonella is an enteric, zoonotic and universally distributed bacterium. Because of the importance of human salmonellosis in developed countries, control measures are required. The pig is considered the second source of infection for humans and the control of swine salmonellosis requires a good understanding of its epidemiology. This study is focused on the understanding of the dynamics of infection of Salmonella spp. in the first weeks of life of the piglets. The results suggest that:

4. The prevalence of Salmonella spp. in piglets of 4 to 6 weeks is very high (33'4%) and higher than expected according to previous reports, finding an upper prevalence in piglets of 6 weeks than 4 weeks, suggesting a lack of protection of the piglets of 6 weeks old when the animal's own immunity is still developing. This implies the need of increasing measures to encourage proper colostrum feeding of piglets and improve the hygiene and sanitation in maternity wards.
5. The infection was more prevalent in summer, showing the effect of high temperatures on piglets, probably due to thermal stress associated with the time and the greater environmental resistance of the bacteria. This suggests the need of improving environmental conditions in maternity wards at this time of year.
6. The relationship between mothers and piglets infection can be justified by the high proportion of serotypes in common, although more detailed studies (genetic characterization) will be required to confirm it.

7. Valoración personal

En primer lugar, quiero agradecer a Raúl Mainar, Alejandro Casanova y el equipo del CITA por dejarme colaborar en su proyecto y su amabilidad y paciencia por enseñarme tanto en el ámbito laboratorial como en el relacionado con la redacción del trabajo.

La razón por la que decidí hacer un trabajo en este tema fue porque por una parte, tenía curiosidad por la investigación, también estuve realizando prácticas en el sector porcino y quería profundizar en algún tema relacionado con ello y eso lo junté con mi gran interés en la microbiología y consideré que sería una buena fusión para sentirme motivada en su realización.

Tras la realización, considero que ha sido una experiencia muy útil, ya que al estar en 5º curso y tener que elegir un ámbito profesional en unos meses, tener la opción de entender el trabajo en un centro de investigación es una gran ventaja.

Por una parte, he adquirido muchos conocimientos sobre la *Salmonella*, desde su importancia de transmisión, sus características a sus métodos de análisis, profundizando más en este último. He podido entender cuáles son los procedimientos bacteriológicos y serológicos para su identificación directa e indirecta, así como el procedimiento para hacer un muestreo y la interpretación de los datos. En la asignatura de microbiología e inmunología tuvimos la primera toma de contacto con estas técnicas pero gracias a este trabajo he podido asimilar y entender cada una de sus pautas.

También me ha servido para aprender a redactar un trabajo de carácter científico. Primero, a sintetizar, entender y explicar información, en el caso de la parte bibliográfica. También he mejorado mis habilidades con el programa Excel, así como aclarado conceptos relacionados con la estadística. Por otra parte, he aprendido a interpretar datos y a realizar su consecuente conclusión.

Aunque solo he participado durante un pequeño periodo en este estudio, los resultados analizados hasta ahora me parecen de gran interés para la salud pública y me han hecho reflexionar sobre la importancia de las enfermedades zoonóticas y el gran papel del veterinario para controlarlo.

Considero que en general, he aprendido y mejorado habilidades, con lo que se han cumplido mis expectativas.

Por otra parte, no he conseguido aclarar cuál es el sector donde quiero dirigirme al acabar la carrera, pero ha sido suficiente este tiempo para aclarar mis ideas sobre una posible salida hacia la investigación. Siendo una opción por el alto interés que tengo en la salud pública pero viendo como contra mi falta de técnica a la hora de redactar así como la paciencia y trabajo que lleva.

Finalmente, considero que el trabajo de fin de grado es una herramienta muy útil para desafiar nuestras habilidades antes de salir al mundo laboral y nos brinda la oportunidad de profundizar en un tema para completar nuestros conocimientos veterinarios.

8. Referencias bibliográficas

Creus, E., Mainar Jaime, R.C. (2010). Salmonelosis en las explotaciones porcinas. SUIS nº 67: 52-58.

Creus, E., Mainar Jaime, R.C. (2010). Salmonelosis en las explotaciones porcinas. SUIS nº 68: 40-48.

Creus, E., Mainar Jaime, R.C. (2010). Salmonelosis en las explotaciones porcinas. SUIS nº 69: 44-53

Creus, E., Mainar Jaime, R.C. (2010). Salmonelosis en las explotaciones porcinas. SUIS nº 70: 48-53.

Efsa.europa.eu. (2016). *EFSA Journal | European Food Safety Authority*. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/efsajournal> [16 Junio 2016].

The Pig Site. (2016). *Acquired Specific Immunity - Managing Pig Health and Treating Pig Diseases on ThePigSite.com*. Disponible en: <http://www.thepigsite.com/pighealth/article/38/acquired-specific-immunity/> [16 Junio 2016].

The Pig Site. (2016). *Salmonellosis*. Disponible en: <http://www.thepigsite.com/diseaseinfo/105/salmonellosis/> [16 Junio 2016].

3tres3.com (2013). *Principales problemas de las cerdas gestantes en grupos*. Disponible en: https://www.3tres3.com/los-expertos-opinan/principales-problemas-con-las-cerdas-gestantes-en-grupos-i_32573/ [16 Junio 2016]

Merckvetmanual.com. (2016). *Overview of Salmonellosis: Salmonellosis: Merck Veterinary Manual*. [online] Disponible en: http://www.merckvetmanual.com/mvm/digestive_system/salmonellosis/overview_of_salmonellosis.html [16 Junio 2016].

Ncsu.edu. (2016). *Salmonella as a Foodborne Pathogen in Pork*. Disponible en: https://www.ncsu.edu/project/swine_extension/publications/factsheets/816s.htm [16 Junio 2016].

Articles.extension.org. (2016). *Salmonella Choleraesuis in Swine - eXtension*. Disponible en: <http://articles.extension.org/pages/27268/salmonella-choleraesuis-in-swine> [16 Junio 2016].

Rodríguez, D. and Suárez, M. (2014). Salmonella spp. in the pork supply chain: a risk approach. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias (Colombian journal of animal science and veterinary medicine)*, pp.65-75. Disponible en:

<http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/view/919/1056> [16 Junio 2016].

Berends B., Urlings H., Snijders J. (1996), *Identification and quantification of risk factors animal management and transport regarding in Salmonella spp. in pigs*. International journal of food microbiology. Utrecht. Disponible en: <http://ftxt.eurekamag.com/002/002862882.pdf>[16 Junio 2016]

Grimont P., Weill F.(2007). *Antigenic formulae of the Salmonella serovars*. Institut Pasteur. Paris. Disponible en:

<http://www.scacm.org/free/Antigenic%20Formulae%20of%20the%20Salmonella%20Serovars%202007%209th%20edition.pdf>[16 Junio 2016]

Biberstein, E., Chung Zee, Y. and Ramis Vergés, M. (1994). *Tratado de microbiología veterinaria*. Zaragoza: Acribia. 119-125

C.M. Bourgeois, J.F. Mescle, J. Zucca (2001). Las Salmonelas. En: *Microbiología alimentaria, vol.1*. Zaragoza. Acribia.53-67.

Mastroeni P., Muskal D. (2006). Salmonella infection of pigs. En: *Salmonella infections: clinical, immunological and molecular aspects*. 1ª edición. Cambridge. 64-68

Brands, D. and Alcamo, I. (2006). *Salmonella*. Philadelphia: Chelsea House Publishers. 74-81.