

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL**



**EVALUACIÓN SEROLOGICA PARA SALMONELOSIS EN GRANJAS**  
**PORCINAS INTENSIVAS DE COLOMBIA. AISLAMIENTO Y**  
**CARACTERIZACIÓN BIOQUIMICA**

**BIBIAN ANDREA ESCOBAR BAQUERO**

**TRABAJO DE GRADO**

**“Presentado como requisito parcial para optar el título de Microbióloga**  
**Industrial”**

**BOGOTA D.C.**

**COLOMBIA**

**NOVIEMBRE 19 DE 2004**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL**

**EVALUACIÓN SEROLOGICA PARA SALMONELOSIS EN GRANJAS**  
**PORCINAS INTENSIVAS DE COLOMBIA. AISLAMIENTO Y**  
**CARACTERIZACIÓN BIOQUIMICA**

**BIBIAN ANDREA ESCOBAR BAQUERO**

**Directora:**

**MARIA ANTONIA RINCÓN**

**Codirectora:**

**JANETH ARIAS**

**BOGOTA, D.C.**

**COLOMBIA**

**2004**

**EVALUACIÓN SEROLOGICA PARA SALMONELOSIS EN GRANJAS  
PORCINAS INTENSIVAS DE COLOMBIA. AISLAMIENTO Y  
CARACTERIZACION BIOQUIMICA.**

**BIBIAN ANDREA ESCOBAR BAQUERO**

**APROBADO**

---

**Maria Antonia Rincón  
Médico Veterinario y Zootecnista  
Director**

**Janeth Arias  
Bacteriologa  
Codirector o asesor**

---

**Orlando Torres  
Médico Veterinario  
Jurado 1**

**José Darío Mogollón  
Médico Veterinario  
Jurado 2**

## **NOTA DE ADVERTENCIA**

"La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia".

Artículo 23 de la Resolución N°13 de julio de 1946:

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar a Dios y a mi familia, por haberme dado la oportunidad de formarme como persona y profesional.

A la Universidad Javeriana, por ser herramienta en el proceso de crecimiento académico y espiritual.

Al ICA-CEISA en especial a los Laboratorios de Medicina Porcina a cargo de la Dra Maria Antonia Rincón y de Bacteriología a cargo del Dr Rafael Villalobos.

Deseo manifestar mi especial gratitud a la Dra Ivonne Hernández quien me brindo la oportunidad de aprender y compartir experiencias laborales.

A tantos amigos que me brindaron su amistad y quienes intervinieron en experiencias enriquecedoras en el área personal y profesional.

## TABLA DE CONTENIDO

### PAG

#### RESUMEN

#### INTRODUCCIÓN

3

#### 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

5

##### 1.1 Historia

5

##### 1.2 Etiología

7

##### 1.3 Patogenia

10

##### 1.4 Virulencia

14

##### 1.4.1 Citotoxinas

15

##### 1.4.2 Endotoxinas

15

##### 1.4.3 Enterotoxinas

16

##### 1.4.4 Sideróforos

17

##### 1.4.5 Proteínas de estrés térmico

17

##### 1.4.6 Genes de Virulencia

17

##### 1.5 Estructura Antigénica

18

##### 1.6 Aspectos inmunológicos

20

##### 1.7 Epidemiología

21

##### 1.8 Cuadro Clínico y Lesiones.

24

##### 1.9 Diagnóstico

26

##### 1.10 Rasgos generales del tratamiento con antibióticos

37

1.11	Control	40
1.12	Medidas a nivel de granja	41
1.12.1	Manejo adecuado de los animales	41
1.13	Prevención	42
1.13.1	Vacunación	42
1.13.2	Programa de prevención contra la salmonelosis	43
1.14	Bioseguridad	44
1.15	Salmonelosis Humana	45
1.15.1	Manifestaciones clínicas	46
1.16	Salud pública	48
<b>2.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>51</b>
2.1	Evaluación serológica. Población en estudio y procedencia de las muestras	51
2.2	Procesamiento de las muestras	52
2.3	Aislamiento bacteriológico de las muestras	52
2.4	Pruebas Bioquímicas	53
2.5	Serotipificación	54
2.6	Antibiograma	56
2.7	Serología	57
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>58</b>
3.1	Bacteriología	58
3.2	Serotipificación	58
3.3	Antibiograma	58
3.4	Serología	59
<b>4.</b>	<b>DISCUSION</b>	<b>65</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>71</b>
<b>6.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>72</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>73</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>85</b>

## INDICE DE TABLAS

	<b>PÁG</b>
Tabla 1	Estructura antigénica de las <i>Salmonellas</i> más representativas 9
Tabla 2	Resultado del antibiograma de los diez aislamientos de <i>Salmonella</i> sp obtenidos de porcinos 59
Tabla 3	Prevalencia serológica de salmonelosis en granjas porcinas intensivas de Colombia. 60

## INDICE DE FIGURAS

		<b>Pág</b>
Figura 1	Halos de sensibilidad y resistencia a los antibióticos evidenciados por el método de Kirby Bauer	62
Figura 2	Distribución de la sensibilidad a los antibióticos presentada por los aislamientos de <i>Salmonella enteritidis subsp typhimurium</i> y <i>subsp dublin</i> .	63
Figura 3	Características de la población estudiada por grupo étnicos. Número de animales muestreados vs Animales positivos por departamento.	64

## INDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
ANEXO 1 Distribución del tamaño de muestra por categoría según granja	74
ANEXO 2 Procedencia de las muestras para estudio bacteriológico	79
ANEXO 3 Procedimiento para aislamiento bacteriológico de <i>salmonella</i>	81
ANEXO 4. Parámetros de resistencia y sensibilidad de las <i>salmonellas</i> frente a diferentes antibióticos	82
ANEXO. 5 Procedimiento serológico para la identificación de <i>salmonella</i>	83
ANEXO 6. Serotipificación de aislamientos porcinos	84

## RESUMEN

La salmonelosis del cerdo esta distribuida en todo el mundo y tiene dos amplias perspectivas para los porcicultores: en primer lugar, los aspectos relacionados con la salud pública y en segundo, las enfermedades que pueden afectar las granjas.

El propósito del presente estudio fue conocer la situación de la salmonelosis porcina en las granjas porcícolas de tipo intensivo a partir de 1152 muestras de suero de porcinos en etapa de ceba y madres multíparas enviadas para monitoreo serológico al Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Con el objeto de aumentar el conocimiento sobre la situación de la enfermedad, el tamaño de muestra obtenido se adicionó en 74 sueros de madres y cerdos de ceba de otras 13 granjas intensivas incluídas en el Banco de Sueros entre marzo y junio de 2004.

Las muestras examinadas con la técnica serológica Covalent mix-ELISA (SVANOVIR, Suecia), diseñada para detectar anticuerpos directos contra *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis ser typhimurium* y *Salmonella enteritidis ser infantis*, permitieron establecer una prevalencia puntual para la infección de 57.8%, equivalente a 709 reactores positivos.

En cuanto a las categorías, se estableció una prevalencia para las madres multíparas del 65.5% y para los cerdos de ceba del 41.1%. La infección se encontró presente en todos los departamentos, estableciéndose las mayores prevalencias respectivamente en Risaralda, Caldas, Huila, Antioquia, Valle y Cundinamarca.

Simultáneamente, se llevó a cabo el análisis bacteriológico de los aislamientos de *Salmonella sp* de 33 muestras de pulmón, hígado, heces y ganglio linfático de cerdos, teniendo en cuenta las técnicas de serotipificación y resistencia antimicrobiana. Un total de 10 aislamientos procedentes de los departamentos de Cundinamarca y Antioquia fueron positivos; 9 de ellos se identificaron como *Salmonella enteritidis ser typhimurium* y uno como *Salmonella enteritidis ser dublin*,

## ABSTRACT

The salmonellosis of the pig is spread all over world and it has two wide points of view for the porcine producers: in the first place, the issues related with the public health and in second, the illnesses that can affect the farms. The purpose of this study is to know the situation of the salmonellosis at the pig farms (intensive type). The study was based on 1152 samples of serum of swinish in feed stage and sow sent for serologic monitoring to the Agricultural Colombian Institute (ICA). In order to improve the current knowledge of the status of the illness, to the initial sampling were added 74 serums of sow and finishing pigs from other 13 intensive farms taken from the Serum Bank between March and June of 2004. The samples were examined by the Covalent mix-Elisa serological technique (SVANOVIR, Sweden), designed to detect direct antibodies against *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis serovar typhimurium* and *Salmonella enteritidis serovar infantis*. The technique allowed to establish a punctual prevalence of the infection of 57.8%, equivalent to 709 positive reactors. As for the categories, it was found that the prevalence for the sow is 65.5% and for the pigs in feed stage is 41.1%. The infection was present in all the departments of the study, being the largest values found in Risaralda, Caldas, Huila, Antioquia, Valle and Cundinamarca.

Simultaneously, it was carried out the bacteriological analysis of the isolations of *Salmonella* sp from 33 samples from the lung, liver, faeces and lymph nodes of pigs, taking into account the serological techniques and the antimicrobial resistance. A total of 10 isolations from the departments of Cundinamarca and Antioquia were positive; 9 of them were identified as *Salmonella enteritidis serovar typhimurium* and one as *Salmonella enteritidis serovar dublin*.

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la porcicultura, ha tenido grandes cambios tanto a nivel genético, nutricional y tecnológico debido a que la demanda de la canasta familiar se ha incrementado durante los últimos años y a que el consumidor está conciente de los beneficios nutricionales que esta carne aporta a su dieta.

El grupo de las bacterias es de vital importancia y en especial las Enterobacterias (patógenas) en el área de la porcicultura, ya que son las causantes de la mayoría de enfermedades diarreicas que atacan a los cerdos en etapa de levante y finalización, lo que implica una causal importante de pérdida económica en la producción, disminuyendo de alguna manera la rentabilidad.

La mayoría de las especies de Enterobacterias son patógenos oportunistas, algunas sin embargo son potentes y específicas sobre todo en el tracto gastrointestinal siendo el género *Salmonella* uno de los más importantes de esta familia.

Las *Salmonellas* son patógenos intracelulares facultativos; esta habilidad es un mecanismo de virulencia importante, porque le permite protegerse de la acción del sistema inmune por parte del hospedador y continuar los procesos de diseminación.

El género *Salmonella* incluye una gama de patógenos como *Salmonella typhi*, causante de la fiebre tifoidea siendo este un patógeno humano estricto y la *Salmonella enteritidis ser typhimurium* uno de los serotipos más representativos en los cerdos.

Los cerdos son un reservorio importante de *Salmonella* para el hombre, por tal razón en diferentes países altamente productores de cerdos se han venido implementando acuerdos de vigilancia epidemiológica en las diferentes etapas de la cadena productiva.

Por lo anterior es importante realizar a nivel nacional un estudio de prevalencia serológica frente a la salmonelosis en granjas porcinas intensivas en Colombia



y lograr por medio de métodos bacteriológicos y bioquímicos caracterizar los diferentes serovares de *Salmonella* aislados de cuadros clínicos, con el fin de conocer el posible impacto de esta enfermedad en la industria, y los riesgos para la salud pública.

En el presente estudio se llevó a cabo un monitoreo serológico basado en una prueba inmunoenzimática Covalent mix-ELISA (SVANOVA, Suecia), con el fin de evaluar la presencia de *Salmonella* en piaras de explotación intensiva a nivel nacional. Además, se utilizaron métodos como la serotipificación, con antisueros de la casa comercial DIFCO, para la identificación de los serovares de *Salmonella* aisladas de cuadros clínicos, que involucraron diarrea durante el período de destete, levante y ceba. Los aislamientos obtenidos se caracterizaron bioquímicamente y se les realizó una prueba antimicrobiana (Antibiograma), que permitió conocer a que tipo de antibióticos eran sensibles o resistentes para así tener mejores resultados en el momento de un reto de campo.

# 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

## 1.1 HISTORIA

El género *Salmonella* deriva su nombre en honor al bacteriólogo y veterinario americano, D.E. Salmón. Fue descrita por primera vez hace más de 100 años y hoy continúa siendo una causa importante de enfermedad en cerdos y un problema de salud pública.

La *Salmonella typhi*, fue el primer miembro de las salmonelas reconocido como patógeno, esta fue reportada por primera vez en 1880 por Eberth y fue aislada en 1884 por Gaffky (Citado por Vadillo *et al*, 2000).

Más tarde fueron aisladas otras salmonelas asociadas con procesos de enfermedad. Salmón y Smith aislaron en 1885 la *S. choleraesuis* y en el mismo año Gaether aisló la *S. enteritidis*. En 1892 Loeffler aisló la *S. enteritidis ser typhimurium*. Posteriormente se continuó con la identificación y clasificación de estas bacterias y los estudios culminaron con la adopción de la terminología y la esquematización serológica de Kauffman y White (Citado por Vadillo *et al*, 2000).

La Salmonelosis en porcinos se puede presentar en tres formas diferentes; septicemia, enteritis aguda y enteritis crónica. La enfermedad se presenta en todos los animales y su distribución es mundial. Su incidencia ha aumentado con la intensificación de la producción de animales de granja. Los terneros jóvenes, lechones, corderos y potrillos, normalmente desarrollan la forma septicémica. Los bovinos, equinos y ovinos adultos normalmente desarrollan enteritis aguda, mientras que los cerdos en crecimiento y algunas veces el ganado vacuno puede presentar enteritis crónica.

La incidencia de la salmonelosis en el hombre ha aumentado en los últimos años, asignándose a los animales el papel de reservorios principales. La transmisión al hombre se produce a través del agua de bebida, la leche, la carne y los huevos contaminados.

En humanos las infecciones agudas del tracto gastrointestinal son muy frecuentes y representan una de las enfermedades más comunes. La diarrea

es la manifestación que con mayor frecuencia se presenta, siendo a nivel mundial una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad especialmente entre lactantes, niños y ancianos, y en países en vía de desarrollo donde las condiciones sanitarias son deficientes (Schwartz, 1996).

En Colombia *Salmonella spp*, *Shigella spp* y *Escherichia coli enteropatógeno* son los agentes etiológicos bacterianos más importantes de la enfermedad diarreica aguda (EDA) en humanos (Vadillo *et al*, 2000).

La completa identificación de *Salmonella* requiere el aislamiento en cultivo, la caracterización bioquímica y la serotipificación. Sin embargo, aunque esta bien definida la serología de *Salmonella*, el empleo de los procedimientos serológicos no sustituye al aislamiento en cultivo y a la caracterización bioquímica. Las similitudes intergenéricas de las *Enterobacteriaceae*, así como la relación antigénica entre sus miembros, aconsejan la utilización de todos los factores indicados anteriormente para obtener una identificación final del agente.

Los organismos conocidos hoy en día como *Salmonella choleraesuis* fueron primero aislados de cerdos por Salmón y Smith (1886), cuando ellos consideraban que podría ser la causa de la fiebre porcina en estos animales. Los cerdos también son susceptibles a *Salmonella enteritidis ser typhimurium* la cual es la bacteria patógena más importante en algunos país no solo por aspectos de salud animal sino también en salud pública.

Existen muchos otros serovares aislados de cerdos que raras veces causan enfermedad en estos animales, pero los cerdos son portadores y por tal razón son de importancia en salud pública (Biberstein y Zee, 1994).

## 1.2 ETIOLOGÍA

Este género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, se han identificado más de 2.400 serotipos y a pesar de que se han aislado una gran cantidad de ellos en carnes, la enfermedad en los cerdos es producida casi siempre por la *Salmonella choleraesuis var. Kunzendorf* y por la *Salmonella enteritidis ser typhimurium*.

Actualmente, se recomienda el uso del “concepto de tres especies” en la nomenclatura de la *Salmonella*. De acuerdo con este concepto solamente se reconocen tres especies de *Salmonella*. Estas son, *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella enteritidis*. Así por ejemplo, la *Salmonella typhimurium*, como era conocida antiguamente, se convertiría en *Salmonella enteritidis ser typhimurium* (Dickinson, 1998).

Las bacterias del género *Salmonella* son bacilos anaeróbicos facultativos, gram negativos, móviles, no formadores de esporas y con flagelos peritricos (con excepción de *S. enteritidis bio ser. pullorum* y *S. enteritidis bio ser. gallinarum*), poseen fimbrias pero carecen de cápsula y metabolizan la glucosa tanto por vía respiratoria como fermentativa.

Otros carbohidratos son catalizados por la producción de ácido y usualmente gas; en general son oxidasa negativa, catalasa positiva, Indol y Voges Proskauer negativo, rojo de metilo y citrato de simmons positivo, lisina y ornitina descarboxilasa positivo (Papoff y Le Minor, 1992).

Las especies de *Salmonella* no fermentan la lactosa y su capacidad para producir sulfuro de hidrógeno a partir de aminoácidos con azufre, es una característica del grupo la cual se usa para identificar las colonias en medios de aislamiento primario. Este microorganismo es resistente a congelación y a ciertos agentes químicos como el verde brillante, el tetrionato sódico y el desoxicolato sódico; sin embargo se inactivan fácilmente por el calor, luz solar y la mayor parte de los desinfectantes que contienen cloro, yodo o fenol (Dusch and Altwegg, 1994).

Estas bacterias son capaces de sobrevivir en gran variedad de condiciones por largos períodos de tiempo, son ubicuas, resistentes al frío, soportan temperaturas entre 7°- 45°C, sobreviven al congelamiento y la desecación, persisten por semanas, meses o aún años en sustratos orgánicos adecuados (Roof, 1993). Su pH ideal está por debajo de 5.0, según estudios experimentales en donde se ha observado la facilidad de su presentación a través de la elevación del pH gástrico (Galán, 1992).

Por otro lado, este microorganismo produce exotoxinas tipo citotoxina asociadas con la membrana celular externa, que inhiben la síntesis de proteínas y que aparentemente son las responsables de los efectos citopáticos relacionados con la gastroenteritis. La exotoxina producida es una enterotoxina, responsable de la diarrea por el mecanismo de hipersecreción. Otros mecanismos de virulencia de la *Salmonella* incluyen una endotoxina de tipo lipopolisacárido (lípidos A) y la habilidad de la bacteria para vivir a nivel intracelular en las células huésped. Esta característica dificulta el diagnóstico y la vacunación y es la responsable de la capacidad de generar un estado de portador en el cerdo (Roof, 1993; Schwartz, 1996)

La identificación serológica de esta bacteria, se basa en la detección de antígenos específicos, como el antígeno somático "O", flagelar "H" y el de virulencia Vi. Los distintos antígenos "O" se designan con numerales (1, 2, 3, etc). Teniendo en cuenta las estrechas relaciones de algunas salmonelas, se asignan en grupos designados como tipos A, B, C, etc., como lo muestra la Tabla 1.

<b>TIPO</b>	<b>SUBESPECIE</b>	<b>ANTIGENO SOMATICO "O"</b>
A	<i>S. paratyphi</i>	1, 2, 12
B	<i>s. scottmuelleri</i>	1, 4, 5, 12
	<i>S. typhimurium</i>	1, 4, 5, 12
	<i>S. abortusoequina</i>	4, 12
	<i>S. abortusovis</i>	4, 12
	<i>S. bredeny</i>	1, 4, 12, 27
C1	<i>S. choleraesuis</i>	6, 7
	<i>S. typhisuis</i>	6, 7
D	<i>S. typhosa</i>	9, 12, Vi
	<i>S. enteritidis</i>	1, 9, 12
	<i>S. dublin</i>	1, 9, 12
	<i>S. gallinarum</i>	1, 9, 12
	<i>S. pullorum</i>	9, 12
E1	<i>S. anatum</i>	3, 10

	<i>S. meleagridis</i>	3, 10
F	<i>S. rubislaw</i>	11
G	<i>S. worthington</i>	1, 13, 23
H	<i>S. horsham</i>	1, 6, 14, 25
	<i>S. brazil</i>	16
	<i>S. hull</i>	16

Tabla 1. Estructura antigénica de las salmonelas más representativas. Tomado de, Rojas & col, Bacteriología y Virología Veterinaria, 1998.

### 1.3 PATOGENIA

La *Salmonella* ingresa al organismo vía oral, a través de la faringe, tracto respiratorio y conjuntiva. Una vez allí factores como el aumento de pH gástrico, la disminución de la peristalsis y la alteración de la flora intestinal, favorecen la colonización del intestino, invadiendo finalmente los enterocitos.

Las bacterias entran a las células intestinales a través de las microvellosidades o por complejos de unión entre los enterocitos, siendo usualmente atrapadas en una vacuola, que migra a la región basal de la célula. Las microvellosidades y el citoplasma apical sufren degeneración en el proceso de internalización, pero son subsecuentemente reparados (Salyers and Whitt, 2002).

Posteriormente los microorganismos pasan a través de los enterocitos a la lámina propia, donde estimulan la respuesta inflamatoria y son engolfados por macrófagos y neutrófilos. La reacción inflamatoria se caracteriza por la presencia en el intestino y lumen de gran número de leucocitos polimorfonucleares. Durante las próximas 24 horas las bacterias en el lumen y en los enterocitos son fagocitadas pero las que persisten en la lámina propia se multiplican dentro de las células fagocíticas.

Las células blanco revisten el último tramo del intestino delgado y el primer tramo del intestino grueso. Si la célula blanco está “desocupada” con respecto al número de salmonelas, es posible que se produzca la enfermedad. Una vez

ha tenido lugar la adherencia, se desconoce cual es la causa que determina que la enfermedad (si es que se presenta) sea diarreica y/o septicémica. Luego de adherirse a la célula blanco, las cepas que producen diarrea se multiplican, segregan una toxina semejante a la toxina LT e invaden la célula. En el interior de la célula, las salmonelas segregan la citotoxina que provoca la muerte de la célula y su desprendimiento de la mucosa intestinal. La gravedad de la enfermedad depende del número de células blanco afectadas (Biberstein y Zee, 1994).

Evidencias recientes basadas sobre los modelos de cultivos titulares, sugieren que el proceso de invasión tiene dos partes: primero las bacterias se adhieren a un receptor no identificado sobre la célula epitelial, luego este activa las funciones celulares, a través del receptor para el factor de crecimiento epidérmico (EGF). La invasión de células de tejidos tisulares por *Salmonella* induce la fosforilación de la tirosina del receptor EGF, el cual parece ser el factor iniciador del proceso que conduce a incrementar los niveles de calcio, depolarización de las microvellosidades e internalización del microorganismo (Galán, 1992).

Algunos investigadores han estudiado la adhesión de *salmonella* a las células epiteliales mostrando que la adhesina no fimbrial, manosa resistente (MR), puede medir la unión de la bacteria a las células tisulares de los mamíferos *in vitro* (Galán, 1992).

Para sobrevivir, la bacteria debe ser capaz de resistir los sistemas destructivos por parte de los macrófagos. Existen reportes que la salmonela puede inhibir la fusión fagosoma-lisozoma y evadir los efectos mortales de los fagolisosomas. Un alto porcentaje de *Salmonellas* son eliminadas por las defensas del huésped y solamente una pequeña proporción de la población bacteriana sobrevive por largos periodos de tiempo, conduciendo a la infección crónica y al estado de portador (Wood, 1992).

Se sabe que la *Salmonella enteritidis ser typhimurium* tiene poca tendencia a invadir mucosa entérica y no tiene predilección para localizarse en una porción

específica del intestino. Por su parte, la *Salmonella choleraesuis*, es invasiva y se localiza preferiblemente en el colon y en la superficie luminal de las células M ileales de las placas de Peyer; esta invasión esta mediada por mecanismos de endocitosis y exocitosis a través de los enterocitos y células M asociadas al tejido linfoide intestinal. El paso a través del epitelio intestinal, conlleva a daño moderado y transitorio de los enterocitos (Schwartz, 1996; Straw *et al*, 1999).

La diseminación de la bacteria a los nódulos linfáticos mesentéricos es rápida, 24 horas después de la ingestión oral ( $10^7$  m.o/g de contenido intestinal) y 2 horas post adhesión intestinal (Schwartz, 1999). Los diseminadores sistémicos de la infección son los macrófagos, dentro de los cuales la *Salmonella* haciendo uso de su característica de parásito intracelular facultativo, se multiplica especialmente en el hígado y el bazo. Los plásmidos poseen importantes genes de virulencia que potencializan la tasa de crecimiento en dichos sitios (Straw *et al*, 1999; Vadillo *et al*, 2000), por ejemplo el plásmido virulento (pSLT), llamado así porque está codificado por los genes *pef* (Salyers and Whitt, 2002).

Las especies del género *Salmonella* son ubicuitarias tanto desde el punto de vista geográfico como desde el punto de vista zoológico. Algunos serotipos tienen una especificidad de hospedador, por ejemplo, en cerdos la *S. enteritidis ser typhimurium* que ocasiona enterocolitis necrosante. Sin embargo es más común la forma septicémica caracterizada por hepatitis, neumonía y vasculitis cerebral producida por la *S. choleraesuis*. La infección del intestino produce una inflamación necrosante, no supurativa de mucosa y submucosa de ileon, ciego y colon. A menudo hay extensión a los ganglios linfáticos regionales y a veces, se produce septicemia generalizada (Jawetz *et al*, 1981).

Las lesiones septicémicas y la sintomatología sistémica encontradas en lesiones por *S. choleraesuis* son explicadas por el estado endotoxémico que se genera. Las endotoxinas producidas por el agente interactúan con los leucocitos y los macrófagos mediante interleucina 1 y linfoquinas, iniciándose el proceso de inflamación y fiebre, llegando algunas veces a producir abortos.

Se considera que las aves y los roedores salvajes desempeñan importantes papeles en la difusión interespecífica de la infección. Los largos períodos de difusión por animales asintomáticos y convalecientes garantizan la amplia distribución incontrolada de los microorganismos.

Los brotes clínicos están relacionados con estados de inmunodepresión, como sucede en los animales sometidos a estados de estrés, como el parto, cerdos con enfermedades víricas sistémicas, la privación súbita de alimentos, el transporte, la sequía, el hacinamiento y la administración de algunos medicamentos (Roof, 1993).

Parece ser que los humanos son sensibles a todos los serotipos de salmonelas, siendo los animales y sus subproductos la fuente más importante de las salmonelas; el hecho de que una persona desarrolle la enfermedad como consecuencia de la ingestión de salmonelas del ambiente depende de la dosis de microorganismos ingerida, del serotipo de *Salmonella* infectante y de la resistencia a la colonización del individuo infectado (Roof, 1993).

*Salmonella enteritidis ser typhimurium* es el serotipo más frecuente que suele producir las gastroenteritis. Otros serotipos tienen una mayor capacidad invasora por ejemplo el serotipo *S. choleraesuis* (del cerdo) y *S. enteritidis ser dublin* (leche infectada) (Usera et al, 1994).

Los microorganismos pueden sobrevivir durante varios meses en áreas húmedas y cálidas, como en los cebaderos para cerdos o en estanques, pero sobreviven solo <1 semana en la materia fecal de bovino. La transformación del alimento en pellets reduce el nivel de contaminación por este agente.

#### **1.4 VIRULENCIA**

El término virulencia se refiere a la capacidad relativa de un microorganismo para producir enfermedad, esto es, su grado de patogenicidad, la cual está determinada por la invasividad del organismo y por su toxigenicidad (Schwartz, 1996).

El género *Salmonella* se caracteriza por presentar varios factores de virulencia, como la producción de enterotoxina, endotoxina y citotoxina (Kwain-Lin et al,

1996), además en especial *Salmonella enteritidis* ser *typhimurium* produce un sin número de adhesinas que incluyen las fimbrias de tipo 1 (codificada por el gen *fim*), fimbrias codificadas por plásmidos (genes *pef*), fimbrias de polo (genes *lpf*) y las fimbrias curli (genes *agf*) (Salyers and Whitt, 2002).

Además de las toxinas, la *Salmonella* produce proteínas que se fijan a las superficies y que les permiten adosarse firmemente a las células epiteliales del intestino, la adherencia un factor clave de virulencia para cualquier patógeno, esta regida en este género por las fimbrias del tipo I en combinación con una hemoaglutinina específica que permite que las células bacterianas aglutinen a los glóbulos rojos sanguíneos (Sherris, 1993).

La motilidad de las células desempeña un papel importante; así las cepas flageladas de salmonela colonizan e inician la infección mucho más rápidamente que los mutantes no móviles.

#### **1.4.1. Citotoxinas**

La Citotoxina actúa inhibiendo la síntesis proteica en la célula hospedador, y debido a que esta asociada a la superficie celular, puede estar también implicada en adherencia, lo que permite que salmonela se una a las células epiteliales. Otros factores involucrados en adherencia son los polisacáridos de la superficie celular (antígeno O) y el antígeno flagelar Vi.

Las fimbrias de tipo I en combinación con una hemaglutinina específica que permite que las células bacterianas aglutinen a los eritrocitos, pueden igualmente estimular la adherencia. Los factores de invasión incluyen los antígenos O y Vi.

Estos factores de invasión son importantes pues evitan la muerte por los fagocitos, un grupo de leucocitos que normalmente ingieren y destruyen a las bacterias.

Se cree que *Salmonella* da lugar a infecciones a través del parasitismo intracelular, por el que crecen y destruyen esas células invadiendo posteriormente otras células epiteliales.

La motilidad de la bacteria desempeña un papel importante, ya que las cepas flageladas de *Salmonella* colonizan e inician la infección mucho más rápido que las mutantes no móviles.

#### **1.4.2. Endotoxinas**

Las Endotoxinas, son propias de bacterias gram negativas que producen lipopolisacáridos como parte de la capa externa de su pared celular; y bajo determinadas condiciones estos compuestos son tóxicos; además normalmente se hallan unidas a la célula liberándose en grandes cantidades sólo cuando estas se lisan. En la mayoría de los casos el término de endotoxina puede equipararse al de lipopolisacárido (LPS). El LPS esta compuesto de un lípido A embebido en la membrana externa, una región core y una región antigénica O (cadena lateral O), el cual consta de unidades de oligosacáridos (Franco, 1990).

El LPS puede ocasionar daño vascular que ocasiona degeneración y muerte de las células epiteliales intestinales, y procesos de trombosis, induciendo la acción de mediadores inflamatorios y citoquinas reguladoras. Por otro lado, ocasiona cambios sistémicos como fiebre, coagulación intravascular diseminada, colapso circulatorio y shock (Franco, 1990).

#### **1.4.3. Enterotoxinas**

Las Enterotoxinas, son exotoxinas que actúan sobre el intestino delgado causando una secreción masiva del líquido en la luz intestinal desencadenando la diarrea. La enterotoxina es termolábil (LT) y su actividad biológica es neutralizada por anticuerpos anti-toxina colérica (CT).

La enterotoxina de *Salmonella typhimurium* consta de dos subunidades: A (25KDa) y la B (12KDa), y esta relacionada con la CT.

La actividad enterotóxica del grupo de la salmonella no está bien caracterizada, sin embargo se cree que la subunidad B (relacionada con la CT) de la enterotoxina producida por *Salmonella*, se une al gangliósido GM1 de la membrana de las células del epitelio intestinal, y la subunidad A sea internalizada, conduciendo a la activación de AMPc intracelular y prostaglandina E2 (PGE2). Estos cambios causan incremento en la secreción de electrolitos y movimiento de agua en el lumen por efectos osmóticos (Papoff and Le Minor, 1992).

#### **1.4.4. Sideróforos**

Los Sideróforos, también actúan como factor de virulencia para *Salmonella* ya que constituye, un mecanismo para absorber hierro, el cual está en forma limitada ya que es utilizado para la dieta del huésped (hombre o animal); por consiguiente dichos sideróforos son exportados a los fluidos del hospedador, donde lo capturan y lo retornan a la bacteria a través de las proteínas receptoras de la membrana externa (Franco, 1990).

#### **1.4.5. Proteínas de Estrés Térmico**

Son otro factor de virulencia expresado por la *Salmonella*, estas responden bajo condiciones de estrés produciendo proteínas denominadas Proteínas de Choque Térmico (HSPs). Las mutantes bacteriales defectuosas en esta habilidad, no sobreviven en los macrófagos y son menos virulentas en ratones (Schwartz, 1999).

#### **1.4.6. Genes de Virulencia**

Estos genes de virulencia codifican productos que permiten al microorganismo establecerse y/o causar daño al hospedador. Ambos genes de virulencia cromosomal y plásmidos han sido identificados en *Salmonella* (Caldwell, 1991).

Los genes cromosomales son necesarios para incrementar la virulencia asociada con los plásmidos. El control genético de la invasión es muy complejo e incluye por lo menos 9 loci y numerosos genes localizados en los cromosomas.

En relación con la invasión de las células del huésped, se ha reconocido un locus llamado (*inv*). El gen *invE* es necesario para *Salmonella*, puesto que estimula los cambios intracelulares en las células epiteliales, necesarios para la internalización de la bacteria (Meyerholz and Stabel, 2003).

### **1.5 ESTRUCTURA ANTIGÉNICA**

El género *Salmonella* está compuesto principalmente por dos clases de antígenos, el "O" o antígeno somático termoestable y el "H" o antígeno flagelar termolábil. La identificación serológica de *Salmonella* se basa en la detección de componentes antigénicos específicos, presentes en la membrana de este microorganismo. En primer lugar, el microorganismo es clasificado dentro del grupo "O" de acuerdo a su composición somática y luego es confirmado por la identificación de su antígeno "H" flagelar (Papoff and Le Minor, 1992).

El antígeno somático "O" es un polisacárido termoestable, soporta calentamiento prolongado a 100°C, además es resistente al alcohol y a los ácidos diluidos. Hacen parte de la pared de la célula bacteriana asociado con el cuerpo de la célula. Es el primer antígeno que se determina en serología utilizando la técnica de aglutinación en lámina para agrupar el microorganismo dentro de la especie *Salmonella sp.* Se preparan a partir de bacilos inmóviles o por tratamiento con alcohol y calor (Dickinson, 1998).

Los anticuerpos contra los antígenos "O" son inmunoglobulinas del tipo IgM, y han sido asignados con números, en orden consecutivo del 1 al 64, utilizando el sistema numérico árabe. La *Salmonella* se divide en serogrupos de la A hasta la Z, dependiendo de su contenido somático (Dickinson, 1998).

El antígeno flagelar “H” termolábil, es una proteína que se identifica usando una técnica de aglutinación en tubo para determinar el serotipo de *Salmonella*. Este antígeno generalmente está asociado con la movilidad del microorganismo, aunque se conocen algunos cultivos no móviles que poseen flagelos.

Los antígenos “H” o flagelares son inactivados por calentamiento a temperaturas superiores a 60°C, así como por el alcohol y los ácidos. Tales antígenos aglutinan rápidamente con sueros que contengan anticuerpos anti-“H”, formando grandes masas esponjosas.

Los antígenos “H” contienen varios constituyentes inmunitarios; para una misma especie de *Salmonella sp* los antígenos flagelares pueden presentarse en cualquiera de dos formas o en ambas, llamadas fase 1 y fase 2. La fase 1 es compartida solo por unas cuantas especies diferentes pero la fase 2 por muchas más. Los organismos tienden a mudar de una fase a la otra y a esto se le llama variación de fase. Los anticuerpos contra los antígenos H son predominantemente IgG (Dickinson, 1998).

Algunas especies como *Salmonella enteritidis biovar gallinarum* y *Salmonella enteritidis biovar pullorum*, no son móviles ya que no poseen ningún antígeno flagelar “H”. Los anticuerpos contra los antígenos “H” son predominantemente inmunoglobulinas del tipo IgG (Dickinson, 1998).

Ocasionalmente está presente un tercer tipo de antígeno, denominado antígeno “Vi”, antígenos K capsulares especializados. Este es un antígeno termolábil de cobertura, que rodea la pared celular y enmascara al antígeno somático convirtiendo el organismo en inaglutinable en sueros O. Las cepas que poseen el antígeno “Vi” tienden a ser más virulentas que aquellas que carecen de él. Los antígenos “Vi” son destruidos por el calentamiento durante una hora a 60°C y por los ácidos y el fenol (Dickinson, 1998).

La *Salmonella* debe ser variable y adaptativa, ya que debe enfrentar una variedad de ambientes, incluyendo: condiciones externas del huésped, el intestino, las células epiteliales y las células fagocíticas de diferentes hospedadores. Estos microorganismos requieren de una señal ambiental, para iniciar las respuestas apropiadas, medidas por la regulación coordinada de una

variedad de genes dispersos en un regulón. Dentro de estas señales ambientales se incluyen: osmolaridad, inanición, estrés, pH, fase de crecimiento, bajos niveles de oxígeno y temperatura (Mekalanos, 1992).

## **1.6 ASPECTOS INMUNOLÓGICOS**

La protección frente a la salmonelosis depende tanto de factores inmunológicos específicos e inespecíficos como de los mecanismos de defensa microbiológica. A nivel de la célula blanco, la enfermedad se previene mediante una total resistencia a la colonización.

Los anticuerpos específicos frente a las estructuras superficiales de *Salmonella* sp, posiblemente frente a las fimbrias, impiden la adherencia de los microorganismos a las células blanco, el recién nacido es protegido pasivamente mediante la ingestión de los anticuerpos específicos IgA o IgG<sub>1</sub>.

El animal maduro desde el punto de vista inmunológico es protegido mediante la exudación de inmunoglobulinas específicas (IgM e IgG) en el sentido de invasión, o mediante la producción de inmunoglobulinas secretoras (Bertschinger and Fairbrother, 1999).

Otro procedimiento más moderno para proteger a los animales frente a las salmonelosis ha consistido en administrar por vía oral a los animales microorganismos que disputan a las salmonelas los nichos a lo largo del tracto intestinal, la competición exclusiva, puede resultar bastante útil, ya que, teóricamente, las salmonelas de cualquier serotipo serían excluidas mientras compartiesen el mismo nicho que la especie competidora.

Los anticuerpos circulantes actúan como opsoninas y facilitan la fagocitosis del microorganismo. La destrucción de las salmonelas que han sido fagocitadas tiene lugar después de la activación inmunológica de los macrófagos por linfocitos específicamente estimulados (células T).

La inmunización artificial frente a las salmonelas resulta difícil. Las bacterinas han dado relativos buenos resultados. Al parecer, no estimulan de forma intensa la inmunidad celular, aunque se producen abundantes anticuerpos. Los anticuerpos que son elaborados localmente o que son ingeridos con el calostro

o con la leche, impiden la adsorción del microorganismo a la célula blanco y protegen frente a la enfermedad. Los macrófagos pueden ser activados y ser estimulada la producción de anticuerpos en respuesta a las vacunas vivas modificadas. Si son administradas por vía oral, estas vacunas estimulan la inmunidad secretora local y la actividad mediada por células fagocitarias (Morilla, 1997).

## 1.7 EPIDEMIOLOGÍA

Todas las especies de aves, reptiles, cerdos, ganado, roedores y otros animales domésticos y humanos pueden ser infectados por *Salmonella sp.* Algunos serotipos son afines a determinadas especies animales, pero todos ellos son potencialmente transmisibles al hombre.

La especie *Salmonella typhi* esta altamente adaptada al hombre y no causa enfermedad en huéspedes diferentes a el; así mismo, otras cepas de *Salmonella* se adaptan a animales, los cuales infectan a los humanos causando en ellos enfermedad severa, por ejemplo *Salmonella choleraesuis* que es huésped específica de cerdos y además ingresa a dicha población por medio de los portadores sanos, produciendo bacteremia, en contraste la *Salmonella enteritidis ser typhimurium* afecta a varias especies y se puede diseminar por medio de agua, roedores, alimento, etc (Biberstein y Zee, 1994).

Los brotes clínicos están relacionados con estados de inmunosupresión, como sucede en los animales recién nacidos y en los animales que se hallan sometidos a estados de estrés como por ejemplo el parto, operaciones quirúrgicas y enfermedades víricas sistémicas (Roof, 1993).

Los vehículos de transmisión varían de acuerdo con el reservorio animal; sin embargo, suelen ser productos animales contaminados por *Salmonella sp.*, durante su procesamiento y manipulación, permitiendo la multiplicación de las bacterias hasta niveles que aumenten la probabilidad de infección y de enfermedad (Biberstein y Zee, 1994).

Estas circunstancias se producen de modo habitual cuando se dejan alimentos crudos o cocidos de forma incompleta a temperatura ambiente durante varias horas, tiempo en que las salmonelas pueden multiplicarse hasta alcanzar concentraciones de  $10^7$  - $10^9$  microorganismos por gramo. Como las bacterias no suelen producir cambios apreciables en los alimentos, las personas que los consumen enferman al día siguiente dependiendo del estado nutricional e inmunológico de los individuos (Biberstein y Zee, 1994).

Parece ser que las personas son sensibles a todos los serotipos de salmonelas y son los animales y sus subproductos la fuente más importante de salmonelas para los seres humanos. El hecho de que una persona desarrolle la enfermedad como consecuencia de la ingestión de salmonelas del ambiente depende de la dosis de microorganismos ingerida, del serotipo de *Salmonella sp* infectante y de la resistencia a la colonización del individuo infectado.

En Colombia, los primeros reportes de la salmonelosis en porcino se hicieron en 1947, cuando se realizó el aislamiento de la *Salmonella choleraesuis* y la *Salmonella typhi*, en cerdos enfermos.

Entre 1959 y 1961, se aislaron 162 cepas de *Salmonella* en los Centros de diagnóstico del Instituto Zoonosológico de Colombia, en cerdos con diferentes manifestaciones clínicas. Por otro lado, en la evaluación al sacrificio de 250 porcinos aparentemente sanos se obtuvieron cuatro cepas: *S. enteritidis ser maniatan*, *S. enteritidis ser typhimurium* y *S. enteritidis ser give*, todas con capacidad de producir cuadros de infección alimenticia en humanos. Estos aislamientos se realizaron a partir de muestras de bilis, ganglios mesentéricos y ganglios mediastínicos (González *et al*, 1997; citado por Mora *et al*, 2003).

Como parte de los estudios de investigación diagnóstica realizados por el Convenio Instituto Colombiano Agropecuario, Asociación Colombiana de Porcicultores y el Fondo Nacional de Porcicultores (ICA-ACP/FNP), en el año 2003 se llevó a cabo un estudio con el objetivo de evaluar la prevalencia serológica (Reactores positivos) frente a *Salmonella sp* en porcinos de ceba sacrificados en dos plantas de beneficio de Bogotá. En total se evaluaron 173

muestras de fluido cárnico, de los cuales 47 animales fueron seropositivos, lo cual correspondió a una prevalencia puntual del 27.2% (Mora *et al*, 2003).

La infección se adquiere por contacto con un portador infectado, contacto con fómites contaminados y vectores, por aerosoles, por vía fecal-oral, así como por el consumo de agua y alimentos contaminados con heces porcinas. Dentro de los vectores se incluyen roedores, aves silvestres, insectos y polvo.

Las infecciones por *Salmonella sp* generan el estado de portador, el cual es fuente de diseminación de la enfermedad para otros animales y los humanos. Los portadores pueden ser: activos: es decir, que eliminan el agente infeccioso por las heces y este se distribuye por los ganglios linfáticos mesentéricos; latentes: no excretan la *Salmonella*, pero esta se localiza en los ganglios linfáticos y en la vesícula biliar; intermitentes: se caracterizan porque eliminan el microorganismo esporádicamente y finalmente los pasivos en donde los animales adquieren al microorganismo pero la infección no se establece (Schwartz, 1996; Straw *et al*, 1999).

En 1999, Stark y colaboradores (citado por Groen, 2002), diseñaron un modelo de diseminación para el riesgo de contaminación e infección con *Salmonella sp* a lo largo de la cadena de producción porcina. La unidad de análisis del modelo fue el cerdo individual, de tal manera que los cerdos pueden estar en uno de los seis distintos estados de infección y contaminación así:

- ? Libre: no posee *Salmonella* internamente, ni en la superficie.
- ? Libre con contaminación: no tiene la *Salmonella* dentro del organismo, pero si está presente en la superficie de la piel o de la carcasa.
- ? Difusor: la *Salmonella* está presente en el intestino y la pueden eliminar al ambiente.
- ? Difusor con contaminación: la *Salmonella* está presente en el intestino y la pueden eliminar al ambiente. La piel o la superficie de la carcasa también está contaminada.

- ? No difusor: la Salmonella esta presente en ciertos órganos pero no en el contenido intestinal, por lo cual no la elimina al medio. Estos animales comúnmente se llaman “portadores”.
- ? No Difusores con contaminación: La piel o la superficie de la carcasa están contaminadas con Salmonella.

## 1.8 CUADRO CLINICO Y LESIONES

En los porcinos, la salmonelosis tiene dos formas de presentación:

1. El cuadro Agudo correspondiente a la salmonelosis septicémica, es causado por la *S. choleraesuis* la cual es transmitida por el contacto (fecal- oral) con animales portadores. La sintomatología clínica aparece luego de un periodo de incubación de 24 a 36 horas. Sus principales síntomas involucran hiperemia de la piel, cianosis, disnea, tos, anorexia, letargia, emaciación, disminución del consumo de alimento entre otras. Los animales mueren súbitamente y los que sobreviven usualmente terminan con diarrea. Esta forma clínica se presenta en animales menores de cinco meses (Schneider, 2001).

Las lesiones macroscópicas más relevantes son: cianosis de las orejas, extremidades, cola y piel de la región ventral. En la necropsia se evidencia congestión de la mucosa gástrica, esplenomegalia moderada, inflamación de los ganglios linfáticos mesentéricos, pulmones difusamente congestionados y focos blanquecinos multifocales en el hígado (Schwartz, 1999).

Dentro de las lesiones microscópicas la más representativa es la presencia de focos paratifoideos (focos de necrosis de coagulación con infiltración de histiocitos) en el hígado que corresponden a las áreas blanquecinas vistas macroscópicamente. De otro lado, se encuentran trombos fibrinosos en las vénulas de la mucosa gástrica, piel, glomérulos y vasos pulmonares (Schneider, 2001).

En la mayoría de los brotes, la mortalidad es alta y la morbilidad es variable, generalmente menos del 10%.

2. Cuadro subagudo-clínico, corresponde a la Enterocolitis, causada principalmente por *S. enteritidis ser typhimurium* que afecta varias especies y tiene un alto potencial zoonótico. Los brotes se asocian a deficientes

condiciones de higiene y consumo de alimentos contaminados. Se afectan animales desde el destete hasta los cinco meses de edad. Clínicamente se observa diarrea acuosa amarillenta, (en algunos casos sanguinolenta), se presenta fiebre, anorexia y deshidratación. Los animales que se recuperan siguen como portadores de la enfermedad hasta por cinco meses más (Schwartz, 1999).

Las lesiones macroscópicas que se llegan a observar durante las necropsias más representativas son: Colitis necrótica difusa, tiflitis, adherencias crónicas amarillentas en la superficie de la mucosa del ciego y del colon en espiral, algunas veces formando úlceras botonosas. El intestino se encuentra edematoso, con manchas de bilis y con material arenoso de color negro. Los ganglios linfáticos ileocecales están aumentados de tamaño y húmedos.

En cuanto a las lesiones microscópicas, estas consisten en necrosis de las criptas intestinales, la lámina propia y la submucosa presentan numerosos macrófagos y moderado número de linfocitos, los neutrófilos son numerosos en las lesiones tempranas. En el ileón y el colon generalmente se presenta inflamación y un engrosamiento, generalmente aparecen restos necróticos en la superficie de la mucosa. La mortalidad es usualmente baja, sin embargo la morbilidad puede ser alta a los pocos días de iniciada la infección (Erdman *et al*, 2003).

## **1.9 DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico de la enfermedad se realiza con base en los signos clínicos y el examen de laboratorio de heces, tejidos de los animales afectados, alimentos, agua de bebida y las heces de roedores y aves silvestres que pueden habitar en la explotación.

En caso de infección intestinal se colectan muestras de heces, intestino delgado o grueso y ganglio linfático mesentérico; en la enfermedad sistémica, se recolecta muestra de sangre, bazo, ganglio, intestino delgado o grueso, hígado y médula ósea (Biberstein y Zee, 1994).

Para el aislamiento e identificación, se hace necesario un preenriquecimiento de la muestra en caldos no selectivos que inhiben flora acompañante. Luego el microorganismo es capaz de crecer en medios o caldos selectivos, los cuales proporcionan las condiciones específicas para su desarrollo. Después se emplean medios selectivos y diferenciales, para aislar el microorganismo y para su posterior identificación por medio de pruebas bioquímicas. El último procedimiento es la serotipificación, por medio de la cual, se determina el género, especie, subespecie y serovariedad.

Una vez aislado e identificado el microorganismo, si se desea realizar un banco de cepas, se puede mantener en un medio de conservación a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Para el preenriquecimiento se utiliza agua Peptonada, posteriormente se hace un enriquecimiento en Caldo Tetrionato y Caldo Rappaport Vassiliadis. El aislamiento se lleva a cabo en medios medianamente selectivos como el Hektoen, MacConkey y XLD, y como medio altamente selectivo se recomienda utilizar el Agar XLT4 (Funk, 2003).

La identificación de las colonias sospechosas se lleva a cabo con pruebas bioquímicas tales como: Citrato, TSI, LIA, Rojo de Metilo (RM), Voges Proskauer (VP), Urea, SIM, como las más representativas (Koneman, 1992).

#### ✍ Preenriquecimiento

- ? Agua Peptonada: El pH básico de este medio, suprime el crecimiento de muchas bacterias intestinales, al mismo tiempo que permite la multiplicación de otras, como *Salmonella* (Hoofar and Mortensen, 2000).

#### ✍ Enriquecimiento

- ? Caldo Tetrionato: Utilizado para el enriquecimiento selectivo de *Salmonella*. A partir de tiosulfato presente en el medio se forma tetrionato al añadir yodo, que inhibe el crecimiento de coliformes y otras bacterias intestinales. La bilis actúa estimulando el crecimiento de *Salmonella* y el verde brillante inhibe bacterias Gram positivas.
- ? Caldo Rappaport Vassiliadis: Este medio de cultivo propuesto por Vassiliadis, es una modificación del caldo de enriquecimiento de

Salmonella según Rappaport. Este medio tiene una mayor selectividad, especialmente a temperatura de 43°C por 24 horas, en este medio de cultivo se redujo la concentración de verde de malaquita y cloruro de magnesio para así obtener un mejor crecimiento a esta temperatura. El medio de cultivo se siembra con la muestra sospechosa o procedente de un preenriquecimiento en agua peptonada. A continuación las colonias crecidas se siembran sobre medios selectivos (Hoofar and Mortensen, 2000).

#### ✍ Aislamiento

- ? Agar Hecktoen: Su alto contenido de sales biliares inhibe el desarrollo de bacterias Gram positivas y retarda el de muchos coliformes, como *E. coli*. Pueden producirse ácidos a partir de hidratos de carbono y la fucsina ácida al reaccionar con el azul de timol produce un color amarillo cuando baja el pH. El tiosulfato de sodio es una fuente de sulfuro y el H<sub>2</sub>S se detecta mediante el citrato férrico de amonio. Las colonias de *Salmonella* son de color azul-verdosas, con centros negros de gas sulfuro de hidrógeno.
  
- ? Agar MacConkey: Es un medio diferencial para la selección y recuperación de *Enterobacteriaceae* y bacilos gram negativos entéricos. Las sales biliares y el cristal violeta inhiben el crecimiento de bacterias gram positivas y de algunas gram negativas existentes. La lactosa es la única fuente de carbono. Las bacterias fermentadoras de lactosa producen colonias que tienen distintos tonos de rojo debido a la conversión del colorante indicador rojo neutro (rojo con pH de 6.8) por la producción de ácidos mixtos. Las colonias de bacterias no fermentadoras de la lactosa aparecen sin color, como es el caso de las colonias de *Salmonella* que en este medio crecen incoloras translúcidas (Koneman, 1992).
  
- ? Agar XLD (Xilosa-Lisina-Desoxicolato): La degradación a ácido de la xilosa, lactosa y sacarosa produce un viraje a amarillo del indicador rojo de fenol. El tiosulfato y la sal de hierro revelan la formación de ácido

sulfhídrico por la precipitación de sulfuro de hierro, observándose así un color negro en las colonias. Los microorganismos lisina positivos como especies de *Salmonella*, producen colonias inicialmente amarillas debido a la utilización de xilosa y colonias rojas retardadas por la descarboxilación de la lisina. Las colonias de *Salmonella* se observan del mismo color del medio (rojo claro), translúcidas con o sin centro negro (Koneman, 1992).

- ? Agar XLT-4: Medio selectivo para salmonelas diferentes a *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi A, B y C*. la diferenciación de *Salmonella* de otros organismos que también crecen en este medio, esta basado en la fermentación de la lactosa, xilosa y sucrosa, descarboxilación de la lisina y la producción de sulfuro de hidrógeno, que es detectado por la presencia de iones férricos en el medio. El tiosulfato de sodio es adicionado como fuente de sulfuro inorgánico, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico del medio y el rojo de fenol es adicionado como indicador para evidenciar los cambios de pH, que son el resultado de reacciones de fermentación y descarboxilación.
  
- ✍ Pruebas bioquímicas que se utilizan para el diagnóstico presuntivo de *Salmonella sp.*
  - ? Utilización de Citrato: El principio de esta prueba es determinar la capacidad de un microorganismo para usar citrato de sodio como única fuente de carbono para el metabolismo y el crecimiento. La presencia de color azul en el medio luego de 24 horas de incubación a 35°C indica la presencia de productos alcalinos por el indicador azul de bromotimol y un resultado positivo de la prueba de utilización del citrato. *Salmonella* utiliza el citrato como única fuente de carbono, lo que origina alcalinización del medio. La reacción positiva se observa por el cambio de color en el medio, de verde a azul.
  
  - ? Agar Triple Azúcar-Hierro (TSI): El medio contiene una concentración de lactosa diez veces mayor que la glucosa, de modo similar la relación sacarosa a glucosa es de 10:1. Los organismos capaces solamente de

fermentar la glucosa, forman una reacción ácida en el medio, el tiosulfato de sodio es necesario para la detección de microorganismos productores de sulfuro de hidrógeno. El sulfato ferroso y el citrato amónico férrico son las sales de hierro más comúnmente utilizadas que reaccionan con el  $H_2S$  produciendo un precipitado negro insoluble de sulfuro ferroso. Debido a que se requiere un medio ácido para que un organismo produzca  $H_2S$ , el ennegrecimiento del medio esta limitado con frecuencia al fondo del agar, especialmente en el caso de bacterias no fermentadoras de lactosa. La colonia recuperada se toma con el asa de inoculación, la cual luego es clavada en lo profundo del tubo, extendiéndose hasta 3 a 5 mm del fondo del tubo. Cuando el asa de inoculación se retira de la profundidad del tubo, la superficie inclinada es estriada con un movimiento de ida y vuelta. Los tubos inoculados se ubican en una incubadora a  $35^{\circ}C$  durante 18 a 24 horas.

*Salmonella* produce una reacción de alcalinización en el pico y un fondo ácido con presencia de  $H_2S$  (color negro), lo cual indica la fermentación de la glucosa y la no fermentación de la lactosa (Koneman, 1992).

- ? Agar Lisina-Hierro (LIA): Medio sólido para la detección de Lisina descarboxilasa, incluye citrato amónico férrico y tiosulfato para revelar la presencia de  $H_2S$ . *Salmonella* es  $H_2S$  positiva y la descarboxilación de la lisina, es evidenciada por la presencia del indicador púrpura de bromocresol en el medio, originando una reacción alcalina con fondo negro y pico púrpura.
  
- ? Rojo de Metilo (RM): Esta prueba proporciona características valiosas para la identificación de especies bacterianas que producen ácidos fuertes a partir de la glucosa. *Salmonella* produce grandes cantidades de ácido a partir de la glucosa por la vía de fermentación ácido mixta. Solo se consideran rojo de metilo positivo aquellos organismos, como *Salmonella*, que pueden mantener el pH bajo luego de incubación prolongada (48-72 horas) (Koneman, 1992).

- ? Voges Proskauer (VP): Esta prueba se basa en la conservación de acetil-metil-carbinol (acetoína) a diacetilo a través de la acción del KOH y oxígeno atmosférico. El diacetilo se convierte en un complejo rojo bajo la acción catalítica del 2,6-naftol y la creatinina. *Salmonella* es negativa en esta prueba ya que utiliza la vía de fermentación ácido mixta.
- ? Urea: Los microorganismos que poseen la enzima ureasa hidrolizan la urea, con lo cual se libera amonio y se produce un cambio de color rosado-rojo en el medio, lo cual sería considerado como una reacción de ureasa positiva. Al comienzo la superficie inclinada se pone roja porque la reacción alcalina, que resulta de la dispersión de pequeñas cantidades de urea, aumenta por las aminas formadas provenientes de la descarboxilación oxidativa de los aminoácidos en la región del medio expuesta al aire. La *Salmonella* no posee esta enzima por tanto es urea negativa (Koneman, 1992).
- ? SIM (Sulfuro de Hidrógeno-Indol-Motilidad): El Indol es uno de los productos de degradación del metabolismo del aminoácido triptófano. Las bacterias que poseen la enzima triptofanasa son capaces de clivar triptófano produciendo indol, ácido pirúvico y amoníaco (NH<sub>3</sub>). El Indol puede detectarse observando la aparición de color rojo luego de agregar una solución de Kovacs (p-dimetilaminobenzaldehído); *Salmonella* es indol nativo. El Sulfuro de Hidrógeno es fácilmente detectado en este medio SIM, debido a su consistencia semisólida, falta de hidratos de carbono para suprimir la formación de H<sub>2</sub>S y uso de hierro peatonizado como indicador. *Salmonella* es productora de H<sub>2</sub>S, revelando un color negro en este medio. Por último, motilidad, que está dada por la presencia de flagelos cuyo número y ubicación varía dependiendo de la especie. Esta prueba se interpreta por medio de un estudio macroscópico del medio en busca de una zona difusa de crecimiento que se ensancha a partir de la línea de inoculación. Algunas salmonelas poseen flagelos los cuales las hacen motiles (Koneman, 1992).

## ? Serotipificación

La identificación serológica se basa en la determinación de los componentes antigénicos mediante la utilización de antisueros polivalentes y monovalentes. Los antisueros polivalentes detectan el antígeno somático "O", específico de Salmonella, determinando su género; así mismo los antisueros monovalentes somáticos determinan el grupo (Dickinson, 1998).

El principio de la identificación serológica, se basa en la mezcla de organismo (antígeno) con el suero inmune (anticuerpo). Si el suero posee aglutininas frente al antígeno, se presenta una aglutinación de por lo menos 3+. Esto es conocido como reacción homóloga. En otras puede reaccionar el suero inmune con otras especies de Salmonella debido a que comparten antígenos; lo cual se conoce como reacción heteróloga (Schneider, 2001).

## ? Método de Preservación

\* **Criopreservación:** Significa congelar y almacenar suspensiones celulares, a temperaturas inferiores a cero grados centígrados, con lo que el agua se congele. De esta forma, al no disponer las células de agua en forma líquida, no hay crecimiento. Cuando se quiere trabajar con las células así conservadas, se recuperan subiendo la temperatura (García y Uruburu, 2000). Este método de preservación, es aplicable tanto a microorganismos esporulados como no esporulados, aerobios o anaerobios.

Los crioprotectores más comunes y efectivos para todo tipo de células son Glicerol y DMSO (dimetilsulfóxido). El glicerol en general da muy buenos resultados, pero necesita más tiempo para penetrar en la célula, en cambio el DMSO penetra con mayor rapidez (Floccari, 1998).

Existen cuatro factores que influyen en la viabilidad y estabilidad de las células conservadas por este método, ellos son:

1. Edad de las células: En la mayoría de los casos conviene utilizar células maduras del inicio de la fase estacionaria de la curva de crecimiento, pero cuando se trate de organismos que presenten en su ciclo vital

algún estado que les prepare para la resistencia a condiciones adversas, es preferible alcanzar este estado.

2. Velocidad en la congelación y descongelación: En general, es mejor que las variaciones de temperatura sean rápidas, tanto para la congelación como para la descongelación, por lo que para descongelar conviene poner las células a 37°C.
3. Temperatura de almacenamiento: Lo ideal es guardar tubos cerrados o sellados, que contengan células microbianas con adición del crioprotector en armarios congeladores que alcancen temperaturas por debajo de -70° C. Si se añade un crioprotector no iónico, como por ejemplo el glicerol, se reduce la cantidad de hielo que se produce y se evita el aumento de la concentración iónica (García y Uruburu, 2000).

## ? Serología

El análisis serológico es un método de diagnóstico indirecto que permite evaluar la presencia de anticuerpos específicos frente a un determinado microorganismo dentro de una población de individuos.

Los perfiles serológicos se pueden usar para determinar la exposición a un agente infeccioso dentro de una piara. La infección y la enfermedad no se deben considerar como sinónimos. En muchos casos los animales están infectados pero no continúan hacia la categoría de enfermedad clínica.

En la evaluación serológica es recomendable conocer los niveles de anticuerpos (exposición a agentes infecciosos) de los reproductores y madres de reemplazo que ingresen en la granja antes de integrarlos al resto de la piara, para evitar discusiones sobre la ausencia o presencia de una enfermedad dentro de la explotación (Cook, 1990).

Un error muy frecuente cuando se trata de la interpretación de resultados serológicos consistente en darles un mayor significado del que es posible. Para evitar problemas de interpretación se deben tener en cuenta los siguientes conceptos: a) Un título de anticuerpos solamente identifica la presencia de anticuerpos circulantes en un punto en el tiempo. La dinámica de la respuesta inmune no se puede evaluar con una sola muestra de suero. b) Se debe

analizar una muestra representativa de la granja para garantizar un buen nivel de confianza en la evaluación serológica de cualquier enfermedad, ya sea de origen viral, bacteriano o parasitario. c) Cuando se necesita evaluar la respuesta inmune para aquellas enfermedades que son endémicas, se deben recolectar dos muestras de suero con un intervalo de 10-14 días para poder detectar cambios significativos en los niveles de anticuerpos (Torres *et al*, 1994)

En un estudio realizado por Baum y col (1999), se demostró que la técnica serológica mix-ELISA desarrollada para detectar LP de *S. enteritidis ser typhimurium* y *S. choleraesuis* es efectiva tanto para muestras de suero como de jugos cárnicos y que además pudo detectar más rápido anticuerpos contra *S. enteritidis ser typhimurium* tres días después de la inoculación.

Igualmente, la respuesta vacunal se puede evaluar mediante el uso de la serología. Dependiendo del tipo de vacuna, los niveles de anticuerpos pueden ser o no ser buenos indicadores de inmunidad (Roof, 1993).

Los perfiles serológicos también son de mucha utilidad para determinar la época apropiada de aplicación de biológicos (vacunas) como agentes profilácticos. Por otro lado, la degradación de anticuerpos se puede estudiar en el tiempo para determinar cuándo han declinado lo suficiente para garantizar una respuesta activa a una aplicación vacunal, este tipo de perfil serológico también es útil para establecer cuándo se requiere aplicar refuerzos vacunales para mantener un buen nivel protector de inmunidad.

La serología también es una herramienta importante para la erradicación de enfermedades principalmente en aquellos casos donde se han suprimido los esquemas de vacunación y se pueden detectar animales portadores (Dush and Altwegg, 1995).

Las técnicas serológicas como la ELISA, son utilizadas con frecuencia en Medicina Veterinaria para el diagnóstico y monitoreo de la enfermedad. Para el análisis serológico se debe tener en cuenta que los anticuerpos aparecen 10-14 días postinfección y permanecen en la sangre por varios meses. Así mismo,

se dispone de kits comerciales de ELISA para la detección de anticuerpos contra *Salmonella sp* en suero o jugos cárnicos (Nielsen, 1996).

Dentro de los kits comerciales utilizados para la evaluación serológica de salmonelosis en cerdos, está el Covalent mix-ELISA (SVANOVIR, Suecia) o el Danish mix-ELISA (DME), estos kits están diseñados para detectar anticuerpos directos contra *S. enteritidis ser typhimurium*, *S. choleraesuis* y *S. enteritidis ser infantis*, los cuales detectan anticuerpos directos contra epítopes de los lipopolisacáridos (LPS) de los antígenos O 1, 4, 6, 7 y 12; teóricamente detectan anticuerpos contra salmonelas pertenecientes a los serogrupos B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, y D (Nielsen, 1996).

Un resultado seropositivo, indica que el animal ha tenido una exposición previa o reciente al microorganismo, por otro lado la seronegatividad nos indica que el animal no ha sido expuesto al agente infeccioso o que posiblemente si ha estado en contacto pero no ha seroconvertido, y en ocasiones los niveles son tan bajos que no pueden ser detectados por la prueba (Harris, 2003).

Los lipopolisacáridos bacteriales (LPS), son antígenos que definen el serotipo al cual pertenecen las bacterias gram-negativas, en algunos casos son usados para la detección de anticuerpos específicos de tipo IgG.

Otros tipos de ELISAS que se encuentran en el mercado, son: la ELISA-Salmotype alemana, la cual utiliza antígenos O 1, 4, 5, 6,7, 12 y permite detectar más del 90% de los serovares que afectan a los cerdos (Baum *et al*, 1999), otra es la ELISA americana SalAD, la cual es indirecta y está desarrollada para detectar anticuerpos en los cerdos expuestos a *Salmonella spp* (Harris, 1993).

## **1.10 RASGOS GENERALES DEL TRATAMIENTO CON ANTIBIÓTICOS**

Los antibióticos son sustancias que impiden el desarrollo y la actividad de ciertos microorganismos. El término antibiótico fue utilizado por primera vez por Waskman en 1942 y lo definió como una sustancia química, producida por microorganismos, que inhiben o destruyen a otros microorganismos (Foley and Maloney, 1999).

La actividad antimicrobiana se establece en diferentes niveles celulares, como pared celular, membrana celular, síntesis proteica e inhibición de los ácidos

nucleicos. Un tratamiento antimicrobiano eficaz normaliza los parámetros clínicos de una infección activa y proporciona una mejoría clínica dependiendo de variables como: el tipo de microorganismo infectante, la localización del proceso infeccioso y la capacidad inmunológica del paciente (Sherris, 1993).

Todos los antimicrobianos pueden causar efectos adversos, entre los cuales cabe citar reacciones de hipersensibilidad, toxicidad directa y súper infección por microorganismos resistentes a fármacos.

Según el efecto ejercido sobre la bacteria, los antibióticos pueden clasificarse como bactericidas, que incluyen la penicilina, las cefalosporinas, aminoglucósidos, vancomicina, polimixina y rifampicina. Por otro lado están los antimicrobianos que ejercen acción bacteriostática, dentro de los que se incluyen las tetraciclinas, cloranfenicol, macrólidos y sulfamidas (Rodríguez *et al*, 1992).

El rango de actividad de un antimicrobiano se denomina espectro, término usado para definir los géneros y especies frente a los cuales ha demostrado ser activo. Se habla de antimicrobianos de amplio espectro cuando actúan sobre Gram positivos y Gram negativos, o espectro reducido cuando actúan sobre un solo grupo. Sin embargo, para efectos prácticos los antimicrobianos se clasifican según su estructura y familia química a la que pertenecen, así: β-lactámicos, aminoglucósidos, macrólidos, quinolonas y polipéptidos entre otros (Goodman, 1996).

Para la medición de la actividad antimicrobiana, se utilizan pruebas de sensibilidad de carácter manual, que se utilizan para determinar la actividad inhibitoria de un antimicrobiano frente a una cepa en particular, estas pruebas son de dos tipos principales: dilución en caldo y difusión en agar (Koneman, 1992).

La resistencia bacteriana a los antimicrobianos puede ser causada por: incapacidad del antimicrobiano para atravesar la pared celular, ausencia de una célula diana específica para el antimicrobiano, capacidad del microorganismo para superar una vía metabólica bloqueada, producción de

una enzima que inactiva el antimicrobiano y resistencia de tipo cromosomal o plasmática.

La resistencia a un antimicrobiano puede ser innata a todos los miembros de la especie e incluir algunos de los mecanismos antes mencionados (resistencia natural) o algunas cepas dentro de unas especies sensibles pueden desarrollar la resistencia (resistencia adquirida). Este tipo de resistencia adquirida puede ser de carácter mutacional o derivarse de otro microorganismo a través de los mecanismos de intercambio genético como transformación, transducción y conjugación, así como el uso intensivo e indiscriminado de antibióticos.

Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana de carácter manual, que se utilizan para determinar la actividad inhibitoria de un antimicrobiano frente a una cepa en particular, son de dos tipos principales, denominados pruebas de difusión en caldo y de difusión en agar (Mateu *et al*, 2002).

EL Antibiograma (Método de difusión en Agar-Kirby Bauer) consiste en una caja de petri que contiene un Agar antibiótico o Agar Müller Hinton, en el cual se siembra uniformemente el microorganismo en estudio.

Sobre la placa se colocan discos de papel filtro que contienen concentraciones conocidas de diferentes agentes antimicrobianos, desarrollándose una zona de sensibilidad o resistencia del microorganismo frente al antibiótico. Se lleva a incubar a 37° C, durante 24 horas. Durante la incubación el antibiótico se difunde desde el papel de filtro hacia el agar.; observándose la presencia de halos de inhibición alrededor de los sensidiscos. Los halos observados sobre la placa se miden y se comparan con datos estándar para determinar si el microorganismo aislado es sensible o resistente a determinado antibiótico (Cherris, 1993).

En las investigaciones recopiladas por Schwartz en 1998 (Citado por Cano *et al*, 2001) para salmonelosis en porcinos, se recomiendan antibióticos como amikacina, gentamicina, neomicina, apramicina, ceftiofur y trimetropin

sulfonamida. Sin embargo la sensibilidad mostrada en los antibiogramas para Florfenicol, Enrofloxacin y algunos Nitrofuranos (aún permitidos en algunos países para su uso) reflejaban los mejores resultados a nivel de campo.

La *Salmonella* durante la enfermedad clínica habita protegida a nivel intracelular, lugar al que los antibióticos comunes tienen poco acceso. Varios antibióticos han sido usados en el tratamiento de infecciones severas por *Salmonella sp*, pero existen pocas pruebas que garanticen su eficiencia a nivel de campo. La elección de un antibiótico adecuado debe tener en cuenta los antibiogramas y la experiencia previa de la granja. La amikacina, gentamicina, neomicina, apramicina, ceftiofur y trimetropin-sulfonamida han sido efectivos contra muchas de las salmonelas comúnmente aisladas, a nivel *in vitro* (Shultz, 1989; Evelsizer, 1990; Shwartz, 1997; citados por Straw *et al*, 1999).

El tratamiento de la salmonelosis debe estar dirigido a minimizar la severidad de la enfermedad, a evitar la expresión de la infección y a prevenir la recurrencia de la enfermedad en la granja (Straw *et al*, 1999).

Además del tratamiento antibiótico, se deben implementar terapias inflamatorias y antipiréticas, para contrarrestar el efecto de las endotoxinas y tratamientos de soporte como la hidratación. También, se deben tomar medidas de manejo como aislamiento de animales enfermos, reducción de exposición de otros animales a material contaminado, limpieza y desinfección de corrales, así como brindar confort a los animales.

## **1.11 CONTROL**

En nuestras condiciones actuales de cría, transporte, comercialización, la concentración de animales antes del sacrificio y las prácticas de procesamiento de alimentos, es difícil obtener alimentos de origen animal libres de salmonelas. Por ahora, el control radica en proteger al hombre de la infección y en reducir la prevalencia en los animales. Una medida importante consistente en la educación para la salud de manipuladores de alimentos y amas de casa sobre

la cocción de los alimentos de origen animal y su refrigeración, como también sobre la higiene personal y ambiental (Acha y Szyfres, 2001).

En países como Dinamarca, la aproximación básica al aseguramiento de la calidad en porcicultura se ha dado mediante la aplicación de planes de Control de Puntos Críticos y Análisis de Riesgos (HACCP) o mediante las Buenas Prácticas de Producción (GGP). El sistema HACCP se caracteriza por una aproximación integrada y comprensiva al proceso de producción mediante el uso de medidas y registros. Los planes de HACCP pueden variar de granja a granja debido a que los controles críticos pueden variar de un sistema a otro (Funk, 2003).

De otro lado, las GPP se basan en evidencias científicas o principios aceptados generalmente y tienen una alta probabilidad de facilitar la realización de objetivos de producción definidos, este tipo de controles generan una reducción de riesgos y no son específicos a sistemas de producción individuales.

Los principios básicos del sistema HACCP son:

1. Realizar la identificación y análisis de riesgo.
2. Determinar los puntos críticos de control (PCC)
3. Establecer un límite o límites para cada PCC.
4. Establecer un sistema de vigilancia o monitoreo de los PCC.
5. Establecer medidas correctivas que han de adoptarse cuando el monitoreo indique que hay desviaciones fuera de los límites de algún PCC.
6. Establecer un sistema de documentación sobre todos los procedimientos y los registros apropiados para estos principios y su aplicación.
7. establecer los procedimientos de validación y verificación para confirmar que el sistema HACCP esta funcionando eficazmente (Groen, 2002; Wilcock, 1992).

## **1.12 MEDIDAS A NIVEL DE GRANJA**

### **1.12.1 Manejo adecuado de los animales**

- ? Realizar destete precoz (18-21 días) para evitar la transmisión madre-lechón de enfermedades (Roof, 1993).
- ? Manipular los animales adecuadamente y garantizar la temperatura adecuada de acuerdo a los requerimientos según la edad, para reducir los niveles de estrés.
- ? En las granjas de cría cada mes los animales deben ser sangrados en busca de anticuerpos para *Salmonella*, si el índice excede el 5% se deben tomar muestras fecales para evidenciar la presencia de *Salmonella* sp (Groen, 2002).
- ? Llevar registros actualizados que contengan manejo de animales. Medicamentos utilizados, rendimiento productivo y hallazgos en las necropsias.
- ? Contar con un plan de vacunación y de vermifugación en el pie de la cría y lechones, así como un adecuado programa de aislamiento y aclimatación de reemplazos (Wong *et al*, 2003).
- ? Control sanitario de los reemplazos mediante muestras mensuales al azar, de materia fecal para cultivo.
- ? Monitorear el estatus sanitario de la granja implementando rondas diarias por los corrales en las que se identifiquen animales enfermos, se valoren clínicamente y se establezcan tratamientos adecuados (Roof, 1993).
- ? Separar los porcinos en grupos de producción (destete, levante y ceba), para facilitar la limpieza y desinfección.
- ? Al finalizar el proceso productivo en cada fase del ciclo, se deben desalojar totalmente las instalaciones.

## **1.13. PREVENCIÓN**

### **1.13.1. Vacunación**

Es un hecho demostrado que la protección asociada a la infección con bacterias del género *Salmonella* son el producto de la inmunidad celular que solo puede ser inducida por vacunas vivas atenuadas más no por bacterinas elaboradas por microorganismos muertos.

Algunas de las vacunas disponibles están elaboradas en base a *S. choleraesuis* atenuada por múltiples pases en cultivos de células blancas, mostrando un alto nivel de protección contra la forma septicémica de la enfermedad, sin embargo investigaciones recientes evidencian cierto grado de inmunidad cruzada contra *S. enteritidis ser typhimurium* o *S. enteritidis ser derby* (Cano *et al*, 2001).

Durante un estudio llevado a cabo por Roof y colaboradores (1993), en donde se inocularon porcinos entre 3-4 semanas de edad, con una vacuna viva avirulenta cultivo (Sc-54) de *S. choleraesuis* vía intranasal. Se encontró que la vacuna era segura, eficaz y la protección que brindó fue de al menos 20 semanas después de administrada. Tal protección redujo la presentación de la enfermedad y permitió que la ganancia de peso continuara.

Por otro lado, Baum (2002), encontró que en una granja al usar la vacuna viva avirulenta contra *S. choleraesuis* hubo reducción significativa en la seroprevalencia de esta bacteria.

### **1.13.2. Programas de prevención contra la Salmonelosis.**

Los programas de prevención y control tienen como único fin el aseguramiento de la calidad de los productos a los consumidores finales. A continuación se nombran algunos de ellos.

En Dinamarca a comienzos de los 90's la carne de cerdo comenzó a ser considerada como el origen de la salmonelosis en los humanos. Fue por esta razón que se incrementaron las medidas de vigilancia a las granjas porcícolas, llegando a estandarizar una clasificación de las mismas que les permitiera saber la situación real de infección en ese momento.

Las piaras se clasificaron en nivel 1: Nada o muy pocas muestras con anticuerpos positivos, índice <40%; nivel 2: Número medio de muestras positivas, índice entre 40-70% y nivel 3: Alto número de muestras positivas, índice >70% (Groen, 2002).

Los hatos clasificados como nivel 3 tuvieron que ser sacrificados con especiales precauciones de higiene.

#### **1.14. BIOSEGURIDAD**

Dentro de la patología porcina, salmonela es una entidad infecciosa de alto riesgo de transmisión, la cual puede perpetuarse en una o varias granjas, si no se toman las medidas adecuadas de control, erradicación de la infección y prevención de la reinfección.

Se ha sugerido establecer métodos de prevención, diagnóstico y control eficiente que permitan disminuir la incidencia de la enfermedad en el animal y proteger a la población humana de la misma. Un aspecto fundamental para la protección de la población humana es el control adecuado de la enfermedad en los animales susceptibles, para lo cual se requiere una estricta supervisión de los productos y/o derivados de la Industria Porcícola, incremento en las labores de educación, control de la calidad microbiológica del entorno industrial, uso de prebióticos y prevención mediante la inmunización.

Es importante reforzar las medidas de bioseguridad en la granja porque una vez establecida la salmonela dentro de la piara, puede infectar a todos los animales allí existentes sin estratificación por difusión vertical y lateral. Esto se logra evitando que los humanos, animales, desechos como la porquinaza, lavazas crudas e implementos introducidos a la granja como semen, sean fuente de infección y diseminación de la bacteria.

El control de plagas y otros animales es muy importante, se debe controlar que perros, insectos, gatos, pájaros y roedores entren en contacto con los porcinos o con su ambiente (Davies, 1999). Se aconseja elaborar estrategias para la eliminación de poblaciones adultas de moscas y búsqueda de criaderos, uso de trampas mecánicas con sustancias atrayentes o de trampas adhesivas, dispuestas en las áreas de mayor infestación. Además, se deben evitar inundaciones y realizar una limpieza y desinfección completa cada vez que se tenga un grupo nuevo de animales (Groen, 2002).

El control en la fuente de alimento es con el fin de reducir errores potenciales en la producción o entrega de este y evitar la contaminación biológica o química.

El control en el transporte que involucra la movilización de animales, embarque y transporte en camiones, deben garantizar un potencial mínimo de contaminación por heces (Davies, 1999).

Por último no hay que olvidar que otra vía de importante de contaminación se lleva a cabo a nivel de matadero debido a la interacción simultánea de cerdos de diferentes orígenes. El proceso de escalado y la extracción de vísceras, facilitan la contaminación de las carcasas, por lo tanto se requiere un alto grado de higiene y un estricto control microbiológico en estos procesos para reducir la contaminación cruzada.

## **1.15. SALMONELOSIS HUMANA**

Es una enteritidis común, generalmente asociada con la ingestión de comida preparada inapropiadamente o previamente contaminada. Los cerdos, las aves, los bovinos y sus derivados como carne, productos lácteos, huevos y con menor frecuencia el agua, son las fuentes de contaminación para el hombre. También es posible la diseminación fecal-oral directa entre niños (Sherris, 1993).

### **1.15.1 Manifestaciones Clínicas**

La **Enterocolitis** o intoxicación alimentaria, es una enfermedad gastrointestinal cuyos síntomas aparecen mucho después de que el patógeno coloniza el intestino, aproximadamente de 6 a 48 horas después de la ingestión del alimento contaminado.

La enfermedad se caracteriza porque después del periodo de incubación de presentan náuseas, vómito y diarrea de gravedad variable, pueden aparecer también mialgias, cefaleas, fiebre y otros síntomas. No es común la presencia de pus y sangre macroscópicamente, pero pueden observarse hematíes y leucocitos en el examen microscópico de las heces.

Existen variaciones considerables en la gravedad y la duración del cuadro, dependiendo de factores del huésped y del tamaño del inóculo. La infección tiende a ser más común, grave y prolongada con recién nacidos, ancianos e inmunosuprimidos (Sherris, 1993).

La enterocolitis puede ser producida por todas las salmonelas a excepción de *S. typhi* y *S. paratyphi A*. La dosis infectante es elevada y oscila entre  $10^6$  - $10^9$  según la virulencia de la cepa. Uno de los agentes causales más importante, es la *S. enteritidis ser enteritidis*, microorganismo patógeno para humanos y animales.

En humanos, las bacterias llegan al intestino colonizando particularmente el ileon y el ciego; se adhieren a las células de las mucosas, penetran por un mecanismo semejante a la fagocitosis e invaden el epitelio, donde se multiplican y producen una reacción inflamatoria (capacidad enteroinvasiva), que va seguida de la activación de la adenilciclase, con pérdida de agua, electrolitos y producción de diarrea (Sherris, 1993).

La **Fiebre Entérica** a diferencia de la enterocolitis, la diarrea no es un signo destacado de esta enfermedad y puede faltar o tener carácter leve en muchos casos. La enfermedad da inicio de 10 a 14 días después de la ingestión del microorganismo, presentando fiebre, malestar general, cefalea y anorexia. La hipersensibilidad y la distensión del abdomen son frecuentes a medida que progresa la enfermedad, algunas veces se detecta el agrandamiento palpable del hígado y del bazo.

La fiebre entérica o tifoidea es producida por *Salmonella typhi* agente causal de esta enfermedad y patógeno exclusivo de humanos.

La enfermedad comienza con la multiplicación del microorganismo en el intestino delgado. El germen penetra en la mucosa, sin producir enterocolitis, pero no se disemina inmediatamente hacia la sangre y los órganos distantes, por el contrario, al alcanzar los ganglios linfáticos regionales se multiplica dentro de las células mononucleares y después se disemina hacia estructuras retículoendoteliales del hígado, el bazo y la médula ósea a través del sistema linfático y la sangre durante el período de incubación.

En el curso de la bacteremia, se infectan otras estructuras como los folículos linfoides intestinales y el tracto biliar, lo que conduce a la infección del tracto gastrointestinal (Sherris, 1993; Koneman, 1992).

La fiebre entérica presenta un problema en el diagnóstico, debido a su compleja patogenia. Las primeras muestras en las que aparece el microorganismo, son los hemocultivos y posteriormente los cultivos de heces y raramente los de orina, se hacen positivos durante la evolución de la enfermedad.

La mayoría de los pacientes con Fiebre Tifoidea, desarrollan anticuerpos aglutinantes contra los antígenos "O" y "H" de *Salmonella typhi*, entre la segunda y tercera semana de la enfermedad (Sherris, 1993).

La **Septicemia** es una infección producida principalmente por *S. choleraesuis*, este microorganismo invade la mucosa y se disemina hacia el torrente sanguíneo sin producir enteritis. La bacteremia con signos de sepsis se produce sin diarrea e incluso no presenta positividad en el cultivo de heces, aunque el foco de invasión se localiza probablemente en el intestino delgado.

En un pequeña proporción de casos, pueden presentarse localizaciones secundarias en forma de abscesos, en diversos órganos o tejidos que se manifiestan al cabo de cierto tiempo (Koneman, 1992).

Finalmente el **Estado de Portador** que es cuando la eliminación de serotipos de *Salmonella sp* después de la enterocolitis puede continuar durante algunas semanas. Estos individuos se consideran portadores convalecientes, después de un mes, sin embargo, la frecuencia de portadores disminuye de modo súbito.

El estado de portador crónico (más de un año) que sigue muchas veces a la infección por *S. typhi* tiene gran significado epidemiológico, puesto que los portadores constituyen el reservorio principal para la aparición de nuevos casos (Sherris, 1993; Koneman, 1992).

## 1.16 SALUD PÚBLICA

Según la distribución mundial, la *Salmonella enteritidis ser enteritidis* es la especie más prevalente en el mundo, seguida de la *Salmonella enteritidis ser typhimurium*. En cortos periodos de tiempo, a veces en un año o dos, pueden observarse cambios en la frecuencia relativa de los serotipos. En una región o país, se aísla del hombre y de los animales solo un número limitado de serotipos. El predominio de uno u otro puede variar con el tiempo. Hay algunos serotipos, tales como *S. enteritidis ser enteritidis* y *S. enteritidis ser typhimurium*, que son de dispersión mundial, en cambio la *S. enteritidis ser weltevreden* por ejemplo, parece confinado a Asia.

La salmonelosis es una enteritis común, generalmente asociada con la ingestión de comida preparada inapropiadamente o previamente contaminada. La salmonelosis se presenta tanto en casos esporádicos como en estallidos, que afectan a una familia o a varios cientos y miles de personas de la población. La verdadera incidencia es difícil de evaluar, ya que muchos países no disponen de un sistema de vigilancia epidemiológica y en donde no existen, los casos esporádicos y leves no suelen notificarse (Cherries, 1993).

Los cerdos están frecuentemente expuestos a salmonelas presentes en los alimentos, agua, heces y otros animales de la pira. La salmonela primero establece una infección subclínica que posteriormente se manifiesta clínicamente ante la presencia de factores predisponentes como: condiciones de estrés, cambios de temperatura, humedad, ventilación, alteraciones nutricionales, presencia de otras enfermedades concomitantes o inmunodepresión (Vadillo *et al*, 2000).

La carne de cerdo es un producto de exportación, por tal razón su control se convierte en un aspecto legal importante, ya que de la excelente calidad del producto determina la inocuidad del mismo y una mejor posibilidad de comercialización a nivel mundial.

La aplicación de las Buenas Prácticas de Producción (Good Production Practice-GPP) y el Control de Puntos Críticos Y Análisis de Riesgos (HACCP),

brindan al porcicultor un aseguramiento de la calidad de su producto y una tranquilidad para el consumidor, ya que no se debe olvidar que la salmonelosis es una enfermedad zoonótica (Langer, 1995).

## **2. MATERIALES Y METODOS**

### **EVALUACIÓN SEROLÓGICA**

#### **2.1 POBLACIÓN EN ESTUDIO Y PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS**

Para realizar el presente estudio se seleccionó una muestra de sueros de los existentes en el Banco de Sueros del Laboratorio Nacional de Porcinos del Instituto Nacional de Diagnóstico Veterinario (ICA), para tal efecto, la población porcina registrada en el Banco a marzo de 2004 estaba constituida por 5072 sueros porcinos pertenecientes a madres multíparas y cerdos de ceba de 188 granjas intensivas localizadas en los departamentos de Antioquia, Atlántico, Bolívar, Boyacá, Cauca, Caldas, Cundinamarca, Huila, Meta, Quindío, Risaralda, Santander, Tolima y Valle, recolectados entre los años 2000 y 2004. El tamaño de muestra calculado se fundamentó en un muestreo simple al azar, asumiendo un nivel de confianza del 95%, un margen de error del 10% con relación a la estimación y una prevalencia del 25% para la salmonelosis porcina en las granjas intensivas del país, dado que estudios preliminares habían permitido establecer una prevalencia puntual de 27.2% para esta condición (Mora *et al*, 2003).

De acuerdo con lo anterior, se obtuvo un tamaño de muestra mínimo de 1152 sueros, los cuales se distribuyeron proporcionalmente según la categoría (madres multíparas y cerdos de ceba) existentes en cada granja (Anexo 1). Los sueros a estudiar de cada una de las granjas fueron seleccionados estrictamente al azar.

Con el objeto de aumentar el conocimiento sobre la situación de la enfermedad, el tamaño de muestra obtenido se adicionó en 74 sueros de madres y cerdos de ceba de otras 13 granjas intensivas incluidas en el Banco de Sueros entre marzo y junio de 2004.

Para el estudio bacteriológico se analizaron 33 muestras de materia fecal, hisopos rectales, hígado, ganglios linfáticos mesentéricos y pulmón, remitidas

al Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario del ICA en Bogotá entre enero y septiembre de 2004. Las muestras fueron tomadas de porcinos entre el destete-ceba procedentes de granjas ubicadas en los departamentos de Antioquia, Cundinamarca, Cesar, Boyacá y Tolima (Anexo 2).

## **2.2 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

Los estudios bacteriológicos y serológicos se realizaron en los laboratorios de Bacteriología y Medicina Porcina del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA-CEISA) en Bogotá.

## **2.3 AISLAMIENTO BACTERIOLÓGICO DE LAS MUESTRAS**

Con el fin de obtener mejores resultados en el aislamiento bacteriológico, se llevaron a cabo unas modificaciones a la técnica utilizada en el laboratorio de Bacteriología del ICA-CEISA. Las modificaciones consistieron en reemplazar algunos medios de cultivo y tiempos de incubación por otros que según literatura tenían mayor especificidad en el momento de recuperar el microorganismo de la muestra en estudio, por ejemplo en el preenriquecimiento no utilizar caldo BHI sino Agua Peptonada e incubar de 18 a 24h a 37°C. Una vez se obtuvieron las muestras de materia fecal, hisopos rectales, ganglio linfático, ileon, pulmón e hígado, se procedió de la siguiente manera:

- ? Un preenriquecimiento para el cual se tomó 1g de la muestra en estudio (materia fecal, hígado, pulmón, ileon o ganglio) y se llevó a 9ml de agua peptonada al 1% y se incubó a 37°C por 24 horas, con el fin de recuperar al máximo la bacteria si allí se encontraba presente.
- ? Seguido a esto se llevó a cabo un enriquecimiento, en el cual se tomó 1ml de agua peptonada y se transfirió a un tubo que contenía 9ml de caldo RVS y se llevó a incubar a 43°C durante 18-24 horas; al mismo tiempo se tomó otro mililitro y se transfirió a 9 ml de caldo Tetracionato con adición de yodo (inhibidor) y se incubó a 37°C durante 18 a 24 horas.

- ? Pasado este tiempo, de los dos caldos RVS y Tetracionato se sembró en agar Mac Conkey, XLD, Hektoen y XLT4 se incubó a 37° y 43°C respectivamente, durante 18-24 horas.
- ? Luego de esto, se tomaron las colonias sospechosas de *Salmonella sp*, aisladas del cultivo en el paso anterior para subcultivarlas en los mismos agares con el fin de obtener una colonia pura.
- ? Una vez aislada la bacteria, se procedió a la identificación bioquímica y a la serotipificación (Este proceso se esquematiza en el Anexo 3).

## 2.4 PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Se realizó el siguiente perfil bioquímico según se recomienda en forma rutinaria (Cano *et al*, 2001).

<b>Prueba Bioquímica</b>	<b>Reacción frente a <i>Salmonella spp.</i></b>
TSI	K / H <sub>2</sub> S
LIA	K / K, H <sub>2</sub> S
SIM	Sulfuro, Indol y Motilidad, Positivo.
RM	Positivo
VP	Negativo
UREA	Negativa
CITRATO	Positivo, H <sub>2</sub> S

Los resultados de estos perfiles bioquímicos se confirmaron con la prueba de Crystal (Difco, USA). Posteriormente se procedió a realizar la serotipificación

teniendo en cuenta que *Citrobacter* puede dar resultados bioquímicos similares a los que presenta la *Salmonella sp.*

## 2.5 SEROTIPIFICACIÓN

Se utilizaron antisueros polivalentes y monovalentes (Difco, USA), con los cuales se confirmó y determinó el género y la especie de los aislamientos.

Los antisueros polivalentes utilizados para la confirmación del género de los aislamientos estudiados fueron el “Salmonella O antisuero Poly AI and Vi” (Difco, Ref 224751), seguido por el antisuero polivalente “Salmonella O antisuero Poly A” (Difco, Ref 224722); este último contenía los grupos somáticos A, B, D, E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>, E<sub>4</sub> y L. Una vez se evidenció la aglutinación, se procedió a utilizar los antisueros monovalentes más comunes que determinaron la especie de las bacterias aisladas de acuerdo con su procedencia (cerdos).

El más común fue “Salmonella O Antisuero Factor 4”, el cual estaba contenido en el grupo B, previamente aglutinado (Difco, Ref 222456).

Si no presentó aglutinación con el antisuero “Salmonella O antisuero Poly A”; se procedió a utilizar el “Salmonella O Antisuero Poly B”, ya que éste permitió descartar otros grupos somáticos de interés como el Grupo C, al cual pertenece el género *Salmonella choleraesuis*, bacteria de interés en el área de la porcicultura.

Es importante tener en cuenta, que no es confirmativa la presencia de salmonela con el solo hecho de haber aglutinado con el antisuero Poly A-I and Vi, ya que cepas del género *Proteus* algunas veces aglutinan con este antisuero (Dickinson, 1998).

El procedimiento anteriormente descrito, se realizó en una lámina portaobjetos, emulsionando la bacteria en una gota del antisuero polivalente e interpretando la prueba por aglutinación. De la misma forma, el control positivo fue una gota de solución salina y una gota de antisuero polivalente, emulsionando en estas una bacteria previamente serotificada como *Salmonella sp.* Este control, debe

interpretarse como no aglutinación en la emulsión de la bacteria con el antisuero.

Así mismo, el control negativo se interpretó como una no aglutinación en antisuero ni en solución salina.

Una vez el organismo es colocado dentro del grupo "O", de acuerdo con su composición somática, se procedió a la identificación de su antígeno "H" flagelar, según el método descrito por Dickinson (1998).

Realmente para este fin, se procedió de la siguiente manera:

- ✍ Se tomaron 497ml de solución salina con adición de 3ml de formol al 37%.
- ✍ Seguido a esto, se sirvió en cada tubo 8.23ml de solución salina y 100  $\mu$ l del antisuero correspondiente y se mezcló.
- ✍ De cada tubo se sacaron 500  $\mu$ l y se adicionaron a otros tubos diferentes y finalmente se agregaron 500  $\mu$ l de la cepa.
- ✍ Se llevó a incubación a 50°C durante una hora, pasado este tiempo, se realizó la lectura por turbidez, evitando al máximo no agitar los tubos con el fin de observar bien la reacción de aglutinación.

## **2.6 ANTIBIOGRAMA**

Se utilizó el método de Kirby-Bauer en agar Müller Hinton para determinar la sensibilidad o resistencia a los siguientes antibióticos: cefquinome, fosfomicina, amoxicilina, trimetropin sulfametoxazol, norfloxacin, ampicilina, doxicilina (Oxoid), colistina y florfenicol (Lab Britania).

Se inoculó una colonia del microorganismo, previamente aislada en agar XLD, en 5ml de solución salina hasta alcanzar una concentración aproximada al tubo 0.5 del Nefelómetro de Macfarland. Seguido a esto, se realizó una siembra del inóculo en una caja de petri con agar Müller Hinton. Inmediatamente se

colocaron sobre la placa, sensidiscos que contenían concentraciones conocidas de los antimicrobianos utilizados en este estudio.

Se llevó a incubar durante 24 horas a 37°C, tiempo en el que el antibiótico se difundió desde el papel de filtro hacia el agar, observándose la presencia de halos de inhibición alrededor de los sensidiscos.

Se realizó la lectura de los antibiogramas, midiendo los diámetros de los halos de inhibición. Los parámetros que se tuvieron en cuenta fueron los establecidos por la casa comercial OXOID y Lab Britania (Anexo 4).

## **2.7 SEROLOGÍA**

Con el propósito de detectar anticuerpos en la población porcina se utilizó la prueba Covalent mix-ELISA (SVANOVIR, Suecia), diseñada para detectar anticuerpos directos contra estos microorganismos ya que detecta anticuerpos directos contra epítopes de los lipopolisacáridos (LPS) de los antígenos O 1, 4, 6, 7 y 12; teóricamente detecta anticuerpos contra *Salmonella* pertenecientes a los serogrupos B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, y D (Nielsen, 1996). El punto de corte de la ELISA fue de OD = 40% (Anexo 5).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 BACTERIOLOGÍA

De las 33 muestras de campo analizadas se obtuvo 10 aislamientos (30.3%) positivos para *Salmonella sp* (Anexo 6). Las muestras positivas pertenecían a granjas ubicadas en los departamentos de Antioquia y Cundinamarca.

#### 3.2 SEROTIPIFICACIÓN

La serotipificación de los diez aislamientos permitió clasificarlos en *Salmonella enteritidis* subespecie *typhimurium* (9), procedentes de granjas en el departamento de Cundinamarca y Antioquia y un aislamiento de *Salmonella enteritidis* subespecie *dublin* procedente del departamento de Cundinamarca. Además, se evidenció la presencia de dos grupos, el B (90%) y D (10%).

#### 3.3 ANTIBIOGRAMA

El comportamiento de la población en estudio frente a los antibióticos utilizados, se determinó por la resistencia y sensibilidad evidenciada en el antibiograma (Figura 1).

Se encontró que las cepas aisladas de cerdos presentaron una sensibilidad del 100% frente a Cefquinome, Fosfomicina, Norfloxacin, Ciprofloxacina, Gentamicina y Amikacina. Simultáneamente se observó una baja resistencia a Norfloxacin y Kanamicina. Por otro lado, se evidenció una total resistencia a los antibióticos, Florfenicol y Tetraciclina (Figura 2).

Tabla 2 Resultado del Antibiograma de los diez aislamientos de *Salmonella* obtenidos de porcinos.

<b>ANTIBIOTICO</b>	<b>SENSIBILIDAD</b>
Cefquinome (CEQ)	10/10
Fosfomicina (FOS)	10/10
Norfloxacin (NOR)	10/10
Ciprofloxacina (CIP)	10/10
Amikacina (AK)	10/10
Gentamicina (GM)	10/10
Neomicina (N)	9/10
Kanamicina (K)	9/10
Colisina (COL)	7/10
Trimetropin Sulfametoxazol (SXT)	7/10
Ampicilina Sulbactan (SAM)	4/10
Amoxicilina (AML)	3/10
Doxicilina (DO)	3/10
Florfenicol (FFC)	1/10
Tetraciclina (TE)	0/10

### 3.4 SEROLOGÍA

En los 1226 sueros analizados pertenecientes a madres multíparas y cerdos de ceba, se encontraron 709 reactivos positivos, lo cual equivale a establecer una prevalencia puntual para la infección de  $57.8 \pm 5.7\%$ , es decir que ésta no sería menor de 52.1% ni mayor de 63.5% ( $p=0.05$ ) (Tabla 3).

Tabla 3. Prevalencia serológica de salmonelosis en granjas porcinas intensivas de Colombia.

DEPTO	MUNICIPIOS (No.)	GRANJAS (No.)	POBLACIÓN (Sueros)No.		PREVALENCIA (%)		TOTAL (%)
			Madres Multíparas	Cerdos de Ceba	Madres Multíparas	Cerdos de Ceba	

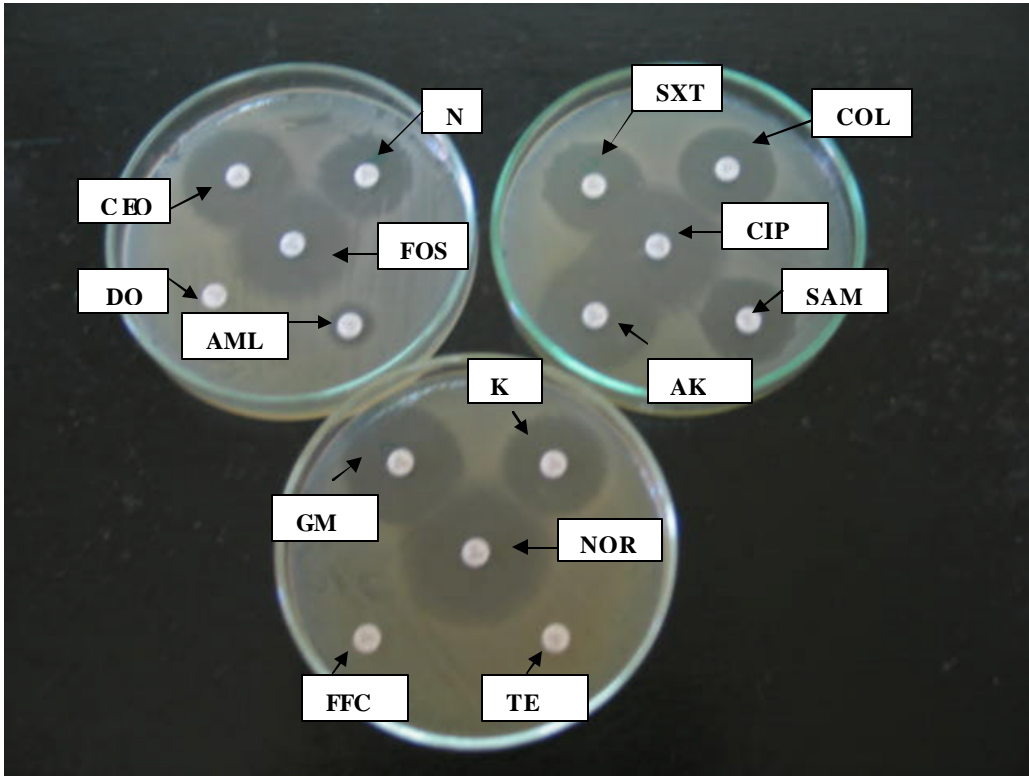
Antioquia	27	90	394	167	67,2	49	61.8
Atlántico	1	1	4	4	4/4	2/4	6/8
Bolívar	1	1	4	3	2/4	0/3	2/7
Boyacá	1	2	8	3	3/8	1/3	4/11
Caldas	8	12	44	26	61,3	65,4	62.8
Cauca	1	2	8	4	3/8	1/4	4/12
C/marca	15	29	111	60	78,3	30.0	61.4
Huila	5	6	21	11	14/21	6/11	62.5
Meta	4	6	26	12	11/26	5/12	42.1
Quindío	2	2	8	5	4/8	0/5	4/13
Risaralda	4	14	55	27	78.1	10/27	64.6
Santander	1	1	3	2	2/3	0/2	2/5
Tolima	3	5	21	10	8/21	5/10	41.9
Valle	17	30	129	57	58,1	24,5	47.8
<b>Total 14</b>	<b>90</b>	<b>201</b>	<b>836</b>	<b>391</b>	<b>65,5</b>	<b>41,1</b>	<b>57,8</b>

El 100% de las granjas intensivas analizadas en los 14 departamentos, fueron seropositivas a *Salmonella typhimurium*, *S. choleraesuis* y *S. infantis*, al contener por lo menos un suero reactor a la prueba de ELISA utilizada (Covalent mix-ELISA SVANOVIR, Suecia).

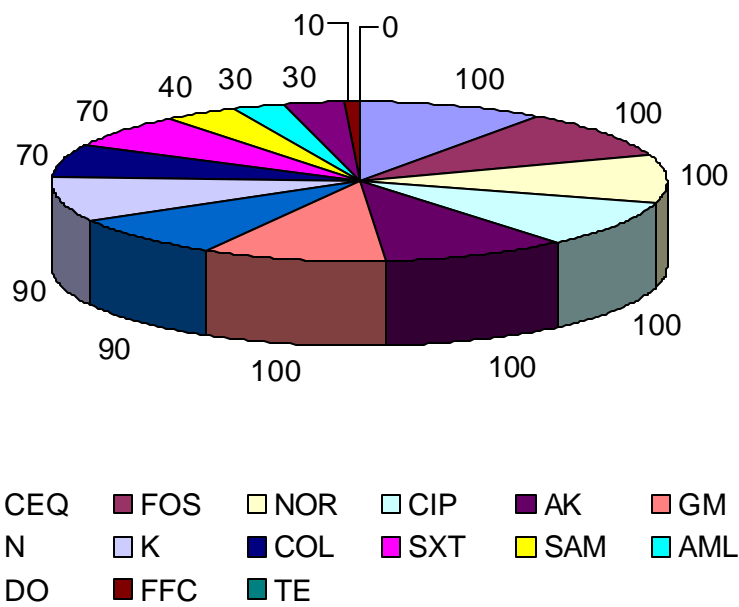
Igualmente, en todos los departamentos se detectaron granjas con animales reactivos, pero las mayores prevalencias correspondieron a Risaralda, Caldas, Huila, Antioquia, Valle y Cundinamarca. El departamento de Antioquia presentó a su vez los municipios con las mayores tasas de prevalencia a saber: Don Matías 76.1%, Caldas 71.0%, Medellín 66.6%, San Pedro 60.9%, Santa Rosa de Osos 56.2% y Tamésis 54.2%. Es de destacar también las prevalencias de Santuario en Risaralda con 67.7% y Palmira en el Valle con 50.0%. Los resultados por departamento y municipio se presentan en la Tabla 3.

En referencia a la categoría de los animales, la prevalencia a nivel nacional fue del 65.5% en las madres multíparas y del 41.1% en los cerdos de ceba (Figura 3).

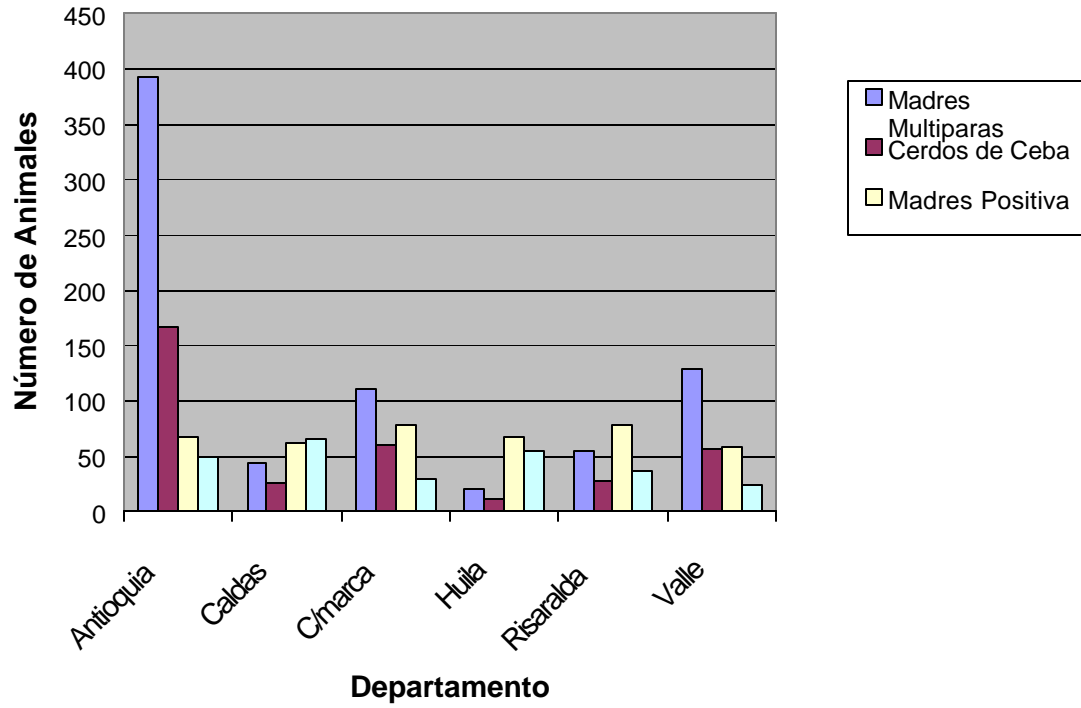




**FIGURA 1. Halos de sensibilidad y resistencia a los antibióticos evidenciados por el método de kirby Bauer.**



**FIGURA 2.** Distribución de la sensibilidad a los antibióticos presentada por los aislamientos de *Salmonella enteritidis subsp typhimurium* y *subsp dublin*.



**FIGURA 3. Características de la población estudiada por grupos etáreos. Número de animales muestreados vs animales positivos por departamento**

## 4. DISCUSIÓN

El análisis serológico llevado a cabo en este estudio a través de la técnica de ELISA, evidenció la respuesta inmune frente a *Salmonella enteritidis ser typhimurium*, *S. choleraesuis* y *S. enteritidis ser infantis* en una población porcina representativa de granjas de tipo intensivo localizadas en los departamentos donde predomina este tipo de explotación.

En Colombia, los primeros informes de salmonelosis en porcinos fueron publicados en el año de 1947, cuando se aisló *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella typhi* en animales con sintomatología clínica (González *et al*, 1997; citado por Mora *et al*, 2003). En un trabajo reciente realizado por Mora *et al* (2003) a nivel de plantas de sacrificio de Bogotá se encontró una prevalencia del 27.2% donde se evaluaron muestras de jugos cárnicos (homogenizados de diafragma), los que son considerados como fuentes alternas de anticuerpos cuando se trabaja a nivel post-mortem (Nielsen, 1996).

La seroprevalencia a *Salmonella sp* encontrada en este estudio en Colombia, es muy superior a la establecida en otros países. Por ejemplo, en Noruega fue de 23.7% en 1996, de 24.5% en 1999 (Schwartz, 1996) y en el 2004 se encontró que oscilaba entre el 0% y el 0.15% luego de llevarse a cabo un programa de vigilancia (Lium and Hopp, 2004).

En Dinamarca, la prevalencia de *Salmonella sp* en cerdos reportada por Harris (2003) mostró una disminución del 3.5% en 1993 al 0.7% en el 2000. Antes de iniciarse el Programa Nacional de Control, la prevalencia en este país era del 5 al 7% (Stege *et al*, 1998).

En Estados Unidos en el año de 1998, Damman y colaboradores llevaron a cabo una evaluación de la prevalencia de *Salmonella sp* en cerdos de engorde la cual resultó ser del 28%; sin embargo, estudios recientes demostraron que la frecuencia de encontrar cerdos positivos varía del 6.0% al 24.6% en muestras de suero (Funk, 2003) y del 12.9% en muestras bacteriológicas (Rostagno *et al*, 2004).

También en los estudios de prevalencia de la salmonelosis realizados en cerdos de engorde en el noroeste de Alemania reportaron una prevalencia de salmonelosis del 3.5% (Ganter *et al*, 1998), la cual es muy baja si se compara con el 39% reportada por investigadores en Cataluña, España (Creus *et al*, 2004).

La alta tasa de prevalencia (57.8%) encontrada en las granjas intensivas de Colombia podría explicarse por la presencia de una serie de factores de riesgo que puedan estar contribuyendo a la diseminación individual o colectiva de la *Salmonella sp.* Dentro de estos factores se incluyen: condiciones de estrés, sistemas de producción, suministro de alimento contaminado (harina de carne o harina de pescado), presencia de insectos y roedores y la localización geográfica de las granjas, siendo este último un factor importante ya que en áreas con una alta densidad de explotaciones se corre el riesgo de que la enfermedad se disemine más rápidamente (Rodríguez *et al*, 2004). Este podría ser el caso de Antioquia, Valle, Caldas, Risaralda, caracterizados por tener una importante población porcina. A esto se debe sumar deficiente bioseguridad y falta de higiene en muchas explotaciones (Mora *et al*, 2003).

Con relación al tipo de animal la mayor seropositividad correspondió al grupo de madres multíparas, en casi todos los departamentos con excepción de Caldas en donde la mayor seropositividad se detectó en los cerdos de ceba con un porcentaje de 65.4% de prevalencia frente al 61.3% en las madres. Estos resultados se podrían explicar por el hecho de que en las granjas convencionales o de flujo continuo (predominantes en Colombia) las cerdas de reproducción son el mayor reservorio de un sin número de microorganismos incluida la *Salmonella* debido a su mayor permanencia dentro de las explotaciones (Roof, 1993).

Ahora bien, aunque la seroprevalencia en la categoría de cerdos de ceba no fue comparativamente tan alta con el de las madres, este hallazgo si se considera de gran importancia por razones de salud pública, debido a que en las plantas de beneficio, estos animales tienen un mayor flujo en comparación

con las cerdas de cría que permanecen durante largos períodos de tiempo (varios años) en las granjas antes de ser descartadas (Baum, 2002).

En el presente estudio se debe destacar que también se analizaron bacteriológicamente 33 muestras de cerdos de 90 días de edad, que ingresaron al Laboratorio Nacional de Diagnóstico con sintomatología clínica sospechosa de infección por *Salmonella sp*, de las cuales se logró obtener 9 aislados de *Salmonella enteritidis ser typhimurium* y una de *Salmonella enteritidis ser dublin*.

El aislamiento bacteriológico se fundamentó en un preenriquecimiento en caldo BHI al 50%, el cual fue reemplazado por Agua Peptonada, luego de verificar por bibliografía su conveniencia para pre-enriquecer las muestras obtenidas de cerdos. El enriquecimiento se hizo en RVS y Tetracionato incubando a 43° y 37° C respectivamente, durante 18-24h. Para aislar la bacteria se utilizaron medios de cultivo como el Mac Conkey, XLD, Hektoen y XLT4. Seguido a esto se confirmó por pruebas bioquímicas y cristal, según los métodos descritos por Funk (2003), Rostagno *et al* (2004) y Hoorfar and Mortensen (2000).

En 1983, Ariza *et al* (citado por Carlson y Blaha, 1998), determinaron una prevalencia entre 2 y 4.8% para *Salmonella sp* a partir de aislamientos en muestras de ganglios linfáticos mesentéricos, contenido fecal y bilis de 100 porcinos sacrificados en dos centros de beneficio de Bogotá. Por otro lado, estudios realizados en 1998 en la Universidad de Minesota, Estados Unidos donde se analizaron 520 muestras de materia fecal y ganglio linfático, se logró obtener 185 aislamientos de *Salmonella enteritidis ser typhimurium*, con una prevalencia de 35.6% con respecto a otras salmonelas aisladas en el estudio (64.4%).

En ese mismo año, en Dinamarca, se llevó a cabo un programa de clasificación de las granjas según el nivel de infección, encontrándose que aunque las granjas pertenecían a niveles 1 y 2, la *Salmonella enteritidis ser typhimurium* era la predominante con un total de 19 muestras positivas sobre 21 muestras analizadas (90.5%) (Wingstrand y Wong, 1999).

Recientemente un estudio publicado a principios del 2004 reportó que en Alemania y España son muchos los aislamientos que se pueden obtener de *Salmonella sp* en cerdos, pero el más importante en la etapa de engorde (90 días) del cerdo es la *Salmonella enteritidis ser typhimurium*, la cual tuvo una prevalencia del 17.3% en Alemania y 25% en España (Roesler *et al*, 2004).

Como se puede apreciar los resultados de estos estudios llevados a cabo en España, Dinamarca, Alemania y Estados Unidos, indican la importancia de la *Salmonella sp* como agente causal de enfermedad principalmente en cerdos de engorde. Sin embargo, la prevalencia encontrada en Colombia de *Salmonella sp* en el presente estudio es más alta que la evidenciada en otros países de Europa y Norte América.

Se debe tener en cuenta que la serotipificación de la *Salmonella sp* mediante la utilización de antisueros específicos es un método sencillo, rápido y confiable. Sin embargo, su costo es elevado debido a la cantidad de antisuero necesario para la identificación completa del microorganismo y a la amplia variedad de serotipos existentes.

Por medio de la serotipificación, se determinaron los grupos presentes en los aislados de *Salmonella enteritidis ser typhimurium* y *Salmonella enteritidis ser dublin*, los cuales se clasificaron dentro de los grupos B y D, siendo el grupo B el más significativo con un 90%, indicando que los aislados relacionados con casos de enteritis en porcinos de levante-ceba y pertenecen a la misma especie y serogrupo.

De otro lado, los antibiogramas realizados demostraron que los aislamientos obtenidos de enfermedad diarreica en cerdos tienen una sensibilidad alta frente a cefquinome, fosfomicina, norfloxacin, ciprofloxacina, amikacina y gentamicina, una sensibilidad media frente a colistina, trimetropin sulfametoxazol y kanamicina y una sensibilidad baja o nula frente al florfenicol y la tetraciclina. En estudios de sensibilidad publicados por Mateu *et al* (2002) la mayoría de los aislamientos de *Salmonella sp* resultaron resistentes a la tetraciclina, ampicilina, trimetropin sulfa y enrofloxacin.

Simultáneamente otros investigadores, Chang *et al* (2002) y Yang *et al* (2002) encontraron que la mayor resistencia se presentaba frente a la estreptomycin, tetraciclina, ampicilina, trimetropin sulfa y neomicina. La resistencia de la *Salmonella* frente a la tetraciclina y la estreptomycin detectada en este estudio coincide con los resultados de estos autores.

En contraste en estudios realizados en la República de Cuba se encontró que la mayor sensibilidad de las cepas de *Salmonella* aisladas a partir de los cerdos, en el período analizado correspondió a la Gentamicina, Kanamicina y el Cloranfenicol con un 100, 93 y 90% respectivamente. Mientras que hubo un 100% de resistencia a la Eritromicina y la Penicilina, y en menor cuantía a la Estreptomycin y Tetraciclina con un 61 y 50% de resistencia respectivamente (Lazo *et al*, 2000), quizás esto se podría explicar por la baja presión de antibióticos en este país si se compara con el nuestro.

Por otro lado, la sensibilidad fue alta para cefquinome, fosfomicina, ciprofloxacina y gentamicina. Estos resultados son muy importantes porque dejan ver que los aislados detectados en los cerdos afectados, no han desarrollado hecho resistencia frente a algunos de los antibióticos disponibles en porcicultura, lo que en último permitiría un mejor tratamiento y control de la enfermedad.

De acuerdo con la clasificación de Wingstrand y Wong (1999), las granjas colombianas intensivas podrían catalogarse en los niveles 1, 2, y 3 de infecciosidad si se tiene en cuenta que en el nivel 1 el grado de infección es leve (10%), seguido por el nivel 2 en donde se considera que la infección se ha incrementado (20-25%) y terminando en el nivel 3 en el cual la infección es considerada alta (>60%), en estos tres niveles se aconseja implantar medidas adecuadas de bioseguridad e higiene tendiendo a prevenir y controlar esta infección, no solo por el impacto de la enfermedad en la salud de los animales sino por el riesgo zoo-sanitario que representan estos altos niveles de prevalencia.

Teniendo en cuenta la importancia de la enfermedad desde el punto de vista del comercio internacional de carnes y productos de origen animal es urgente

implementar un sistema de vigilancia y control que involucre toda la cadena productiva.

Finalmente, se recomienda realizar estudios de investigación serológica completa a nivel de granjas y plantas de sacrificio, para determinar la serovariedades circulantes y análisis del ADN genómico para poder realizar un estudio molecular más específico respecto al origen y distribución de las cepas.

## 5. CONCLUSIONES

- ? Por medio de la serología, se comprobó que en Colombia existe una alta prevalencia (57.8%) de *Salmonella sp* en las granjas de explotación porcina, en las categorías de madres multíparas y cerdos de ceba.
- ? La serotipificación permitió determinar que los aislamientos pertenecen al género *Salmonella*, especie *enterica*, subespecie *typhimurium* y *dublin*, con una prevalencia del serogrupo “B” del 90% con respecto al otro serogrupo encontrado.
- ? Se pudo comprobar que la mejor muestra para el aislamiento de *Salmonella* en porcinos es contenido cecal de ciego, materia fecal y ganglios linfáticos.
- ? Se demostró que el preenriquecimiento en agua peptonada permite que la bacteria se recupere y pueda ser aislada satisfactoriamente.
- ? Se determinó la sensibilidad de los aislamientos frente a gentamicina, cefquinome, fosfomicina, norfloxacin, ciprofloxacina y amikacina y una clara resistencia frente al florfenicol y tetraciclina, lo cual es muy preocupante porque revela la presión de antibióticos en el campo.

## 6. RECOMENDACIONES

- ✍ Viendo las exigencias y la importancia en la seguridad alimentaria, se hace necesario aplicar en Colombia un modelo para el control de la salmonelosis que involucre productores, comercializadores, procesadores, plantas de sacrificio y autoridades sanitarias, que permita ofrecer al consumidor productos de origen porcino de calidad e inocuidad.
- ✍ Cuando la historia de la granja y la clínica sean sospechosas de Salmonelosis, se debe utilizar la información generada a partir de las necropsias, la histopatología y la bacteriología para llegar al diagnóstico definitivo y establecer el plan de control específico para esta enfermedad.
- ✍ Para disminuir los niveles de prevalencia se debe implementar en la s granjas un plan de control de roedores y otros animales que puedan ser portadores.
- ✍ Un aspecto en el que se debe investigar, es la interacción entre ciertos virus como el Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRS) con bacterias del género *Salmonella sp*, porque en granjas positivas a PRRS el problema de salmonelosis se agrava.
- ✍ Medidas profilácticas como el uso de ácidos orgánicos (láctico, fórmico, acético y propiónico) en el agua de bebida puede prevenir la infección por *Salmonella sp*.

## **ANEXOS**

**ANEXO 1. DISTRIBUCIÓN DEL TAMAÑO DE MUESTRA POR CATEGORÍA  
SEGÚN GRANJA**

DEP/TO	MUNICIPIO	GRANJA	CERDAS MULTIPARAS		CERDOS DE CEBÁ	
			No Sueros Examinados	No Animales Seropositivos	No Sueros Examinados	No Animales Seropositivos
ANTIOQUIA	Medellin	Proseguir	4	4	2	2
		La Serrania	4	3	2	2
		El Salado I	5	4	2	2
		El Salado II	5	3	2	2
		EL Salado III	3	3	2	1
		Macaná	5	4	2	0
		La Posada	5	5	2	2
		Campoalegre	4	2	2	0
	Envigado	El Establo	5	1	4	0
		207LE Tecniagro	4	2	2	2
		San Luis	5	5	2	1
		508RE Tecniagro	4	1	2	0
	Santa Barbara	216MR Tecniagro	4	2	2	2
	Fredonia	482GE Tecniagro	3	3	2	2
		528VI Tecniaghro	5	1	2	2
		La Brasilia	3	3	2	0
		La Morelia	5	2	2	0
	Don Matias	Rancho Alegre	5	3	2	2
		Villa Ines	2	2	1	0
		Guanabuco	4	2	0	0
		Guanabuco I	5	5	2	2
		514SI Tecniagro	5	5	2	1
		194EO Tecniagro	5	5	2	0
		Pichirila	5	5	2	1
		laureles	5	5	2	2
		Paraiso	5	5	2	0
		El Porvenir	5	4	1	0
	Tamesis	El Diamante	5	2	0	0
		El Paraiso	5	0	2	2
		Santa Maria	2	1	1	1
		482 Tecniagro	3	1	2	0
		724PM Tecniagro	5	5	2	2
		El Carmelo	4	2	2	0
		La Aventura	5	5	2	0
		San Judas	5	4	2	0
	Guarne	Casa Vieja	4	2	2	1
		Barbosa	El Cortado	5	4	2
	Barbosa	Sinai	5	3	2	0
		La Muy	3	2	2	1
		Los Llanos	6	3	1	0
		Caldas	El Torbellino	5	2	2
		462CA Tecniagro	5	5	2	2
		La Vitrina	4	4	2	2

		San Fernando	5	4	2	0
		La Florida	4	3	2	1
		Hato Grande	4	2	1	0
		Tribilandia I	3	3	1	1
		Tribilandia II	5	3	2	2
		Tribilandia III	5	4	2	2
	Bello	La pradera I	4	1	2	2
		La Unión	4	4	2	1
		Las Cumbres	5	5	0	0
		Agrop. El Yarumo	5	5	2	1
	Rionegro	San Jorge	4	3	2	0
		PorcicolaRionegro	5	4	2	2
	Entrerrios	La pradera II	4	2	2	2
		Potrerros	4	4	2	2
		Chachafruto	1	0	2	1
		San felipe	4	2	2	2
	San Pedro	La Fresca	5	4	2	0
		La Meseta	5	4	2	1
		Cerezales	5	5	2	0
		Integrada C	5	5	2	2
		El Tambo	4	2	2	1
		San Jorge	5	0	2	1
	Santa Rosa de Osos	Acacias	5	3	2	0
		Integrada B	5	5	2	0
		Los Encuentros	5	3	2	2
		Balcones	5	2	2	0
		San Juan	3	3	1	0
	Marinilla	La Ilusión	3	2	1	0
	Mutata	Hacienda Mutata	4	3	2	0
	La Ceja	Los Alpes	5	3	2	2
		AEO11 Tecniagro	3	3	2	1
	Belmira	346EU Tecniagro	4	2	2	2
		198FU Tecniagro	4	3	2	0
		700PV Tecniagro	5	4	2	0
	Ebejico	La Trampa	5	1	2	2
	Girardota	Manantiales	5	2	2	0
	Concordia	Santa Mónica	5	2	2	0
		El Silencio I	4	3	2	2
		El Silencio II	5	1	1	0
	Los Alpes	483IM Tecniagro	4	2	1	1
		Villa del Lago	5	4	2	0
	Salgar	Villa Laura	5	4	2	0
	Apartado	Sacramento	3	1	2	0
	Carmen Viboral	La Pipiola	4	1	2	1
	San Carlos	Cabaña	5	2	2	0
		Astillero	5	2	2	0
		La María	3	1	3	3
Sub-total	27	90	394	265	167	82
<b>ATLANTICO</b>	Polo Nuevo	Villa Clarita	4	4	4	2
Sub-total	1	1	4	4	4	2
<b>BOLIVAR</b>	Sta Rosa Lima	La Reforma	4	2	3	0
Sub-total	1	1	4	2	3	0

<b>BOYACÁ</b>	Guayata	San Isidro	4	1	1	0	
		Las Margaritas	4	2	2	1	
Sub-total	1	2	8	3	3	1	
<b>CALDAS</b>	Villa María	La Pradera	3	3	2	1	
	Belalcázar	Mandalay	4	4	1	1	
	Chinchina	Buenos Aires	4	4	2	0	
	Neira	El Guayabo	1	0	5	3	
		Los Alpes	3	3	3	3	
		Alaska	4	1	2	2	
		Los Pinos I	5	2	2	2	
		Los Pinos II	5	4	2	2	
	Palestina	Monte Lindo	3	0	2	1	
	Manizales	Monte Lindo	3	1	1	1	
	Aguadas	La Palmera	4	2	2	0	
Risaralda	Los Arrastres	5	3	2	1		
Sub-total	8	12	44	27	26	17	
<b>CAUCA</b>	Piendamó	Belén	5	2	2	1	
		Belén II	3	1	2	0	
Sub-total	1	1	8	3	4	1	
<b>C/MARCA</b>	La Vega	La California	5	5	2	2	
	Mosquera	Marengo	2	2	2	0	
	San Antonio	El Pomaroso	5	3	2	0	
		Tequendama	3	2	2	2	
		Moralba	4	2	2	0	
	Ricaurte	La Angostura	5	3	1	0	
	Choconta	Buenos Aires	4	4	2	0	
		Rio de Oro	4	3	3	0	
		El Porvenir	4	4	2	2	
		Agromaral	5	5	2	0	
	Madrid	Pas	2	2	2	0	
	Tena	El Zincho I	4	2	2	0	
		El Zincho II	5	3	2	0	
	Silvania	Porcicola Lider	4	4	2	0	
		La Molienda I	4	4	2	1	
		La Molienda II	5	3	2	0	
	La Calera	El Porvenir	4	4	1	0	
	Guasca	El Cedral	3	3	2	0	
	Viota	Alejandria	4	4	2	1	
	Fusagasuga	Fabipollo	4	2	2	0	
		Villa Marcela I	4	2	2	0	
		Villa Marcela II	5	5	4	4	
	Guayabal de Siquima	La Idalia	4	4	2	2	
		Sajonia	5	3	2	0	
	Sasaima	Villa Katrina	4	3	2	0	
		El Porfin I	4	1	2	2	
		El Porfin II	1	1	3	2	
	Fómeque	El Farol	2	2	2	0	
		San Valentin	2	2	2	0	
	Sub-total	15	29	111	87	60	18
	<b>HUILA</b>	Campo Alegre	La Angostura	0	0	1	1
			San Nicolas	4	2	2	1
		Tello	Las Brisas	5	4	2	1

	Rivera	Ceagrades	4	4	2	2
	Neiva	Agrop. Trapichito	5	2	2	0
	Pitalito	Los Nogales	3	2	2	1
Sub-total	5	6	21	14	11	6
<b>META</b>	Guamal	El Trebol	3	2	2	0
	Villavicencio	San Diego I	3	1	2	1
		San Diego II	5	2	2	2
	Cumaral	San Nicolas	5	2	2	0
		San Nicolas II	5	1	2	1
Acacias	Colonia Penal	5	3	2	1	
Sub-total	4	6	26	11	12	5
<b>QUINDIO</b>	Circacia	EL Vaticano	3	1	3	0
	Quimbaya	Panaca	5	3	2	0
Sub-total	2	2	8	4	5	0
<b>RISARALDA</b>	Santuario	La Marina I	3	3	2	2
		La Marina II	5	3	2	1
		Salamanca	4	4	2	1
		Salamanca I	5	4	2	0
		Villa Carmen	4	3	2	0
	Santa Rosa	San Martin	4	2	2	0
		El Cortijo	4	4	1	0
		Pontevedra	4	4	2	1
	Pereira	San Antonio	4	4	3	1
		Gavilanes	3	3	2	2
		La Pampa	2	1	2	0
		Asturias	4	1	1	0
	La Virginia	Los Cedros	4	4	2	1
		la Pradera	5	3	2	1
	Sub-total	4	14	55	43	27
<b>SANTANDER</b>	Guepsa	Caván	3	2	2	0
Sub-total	1	1	3	2	2	0
<b>TOLIMA</b>	Carmen de Apicala	San Luis	4	1	2	0
		La Andrea	4	1	2	1
	Ibagué	Carlina	3	3	2	2
	Alvarado	La Esmeralda I	5	2	2	0
		La Esmeralda II	5	1	2	2
Sub-total	3	5	21	8	10	5
<b>VALLE</b>	La Unión	El Futuro	5	2	1	0
	Cartago	La Fabiola	4	4	5	0
		El Diamante	4	2	2	0
	Ansermanuevo	Pior es nada	4	2	2	0
	Obando	La María	2	2	2	1
		Terranova	5	4	2	1
	Jumbo	Porcilandia	4	3	2	1
	Palmira	La Margarita I	4	1	2	0
		Paraiso	6	4	2	1
		El Pedregal	5	1	2	0
		Curazao	7	7	2	1
		El Pedregal	4	4	2	1
	Buga	La Margarita II	5	1	1	0
		Pitingo I	4	1	1	0
		La Ventura	3	3	2	0

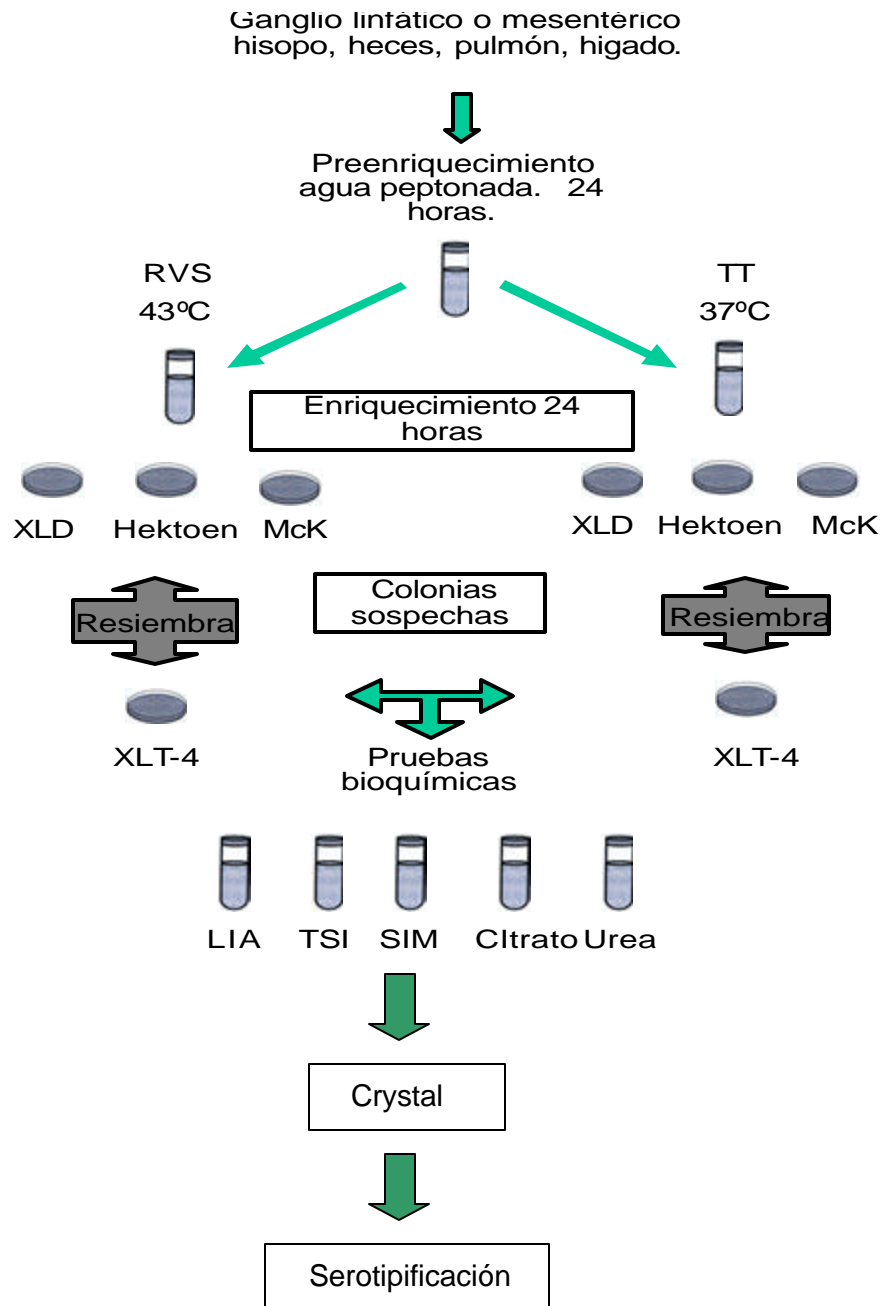
		Pitingo II	4	3	1	1
		Valentina	5	1	1	0
	Candelaria	La Sierra	5	5	2	0
		Las Camelias	5	4	1	0
	Restrepo	Santa Isabel	5	1	4	1
	La Cumbre	El Tenjo	4	3	2	0
	Florida	Porcibalcilla	5	1	2	0
	Cali	San Rafael	3	2	2	1
	Calima	Casa Blanca	3	1	2	0
	Guacari	Bella Vista	4	1	2	0
	Alcalá Tuluá	Pisamal	5	3	2	1
		La Candelaria	4	3	1	1
		El Paso	3	3	1	1
	Jamundí	Arizona	3	1	1	0
		La Fortaleza	5	2	2	2
Sub-total	17	30	129	75	57	14
<b>TOTAL</b>	<b>90</b>	<b>201</b>	<b>836</b>	<b>548</b>	<b>390</b>	<b>161</b>

**ANEXO 2. PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS PARA ESTUDIO  
BACTERIOLÓGICO**

DEPTO	MUNICIPIO	GRANJA	EDAD	PRESENCIA DE DIARREA	INFORMACIÓN GENERAL	RESULTADO
Antioquia	Caldas	La Palmera	3 meses	SI	Colitis fibronecrótica aguda	POSITIVO <i>S. enteritidis</i> <i>serTyphimurium</i>
Cesar	Valledupar	Monasterio Hnas Clarizas	2 meses	SI	Enterocolitis	NEGATIVO
C/marca	San Antonio del Tequendama	Tequendama	3 meses	SI	Enterocolitis aguda severa.	POSITIVO <i>S. enteritidis</i> <i>serTyphimurium</i>
Boyacá	Puerto Boyacá	Villa Valentina	12 días	SI	Entero colitis	NEGATIVO
C/marca	La Calera	Hacienda Marquez	3 meses	SI	Animal muerto Dx Integral.	POSITIVO <i>S. enteritidis ser dublin</i>
C/marca	Silvania	Chicoral	40 días	NO	Inapetencia, pérdida de peso, infección pulmonar.	POSITIVO <i>S. enteritidis</i> <i>serTyphimurium</i>
C/marca	Sasaima	Villa Catrina	11 días	SI	Moderado edema en mucosa gástrica, colón, ileón.	NEGATIVO
Tolima	Honda	Mr Pig de Colombia	65 días	SI	Enteritis necrótica aguda con septicemia.	NEGATIVO
C/marca	Mesitas del Colegio	La Victoria	3 meses	NO	Enteritis necrótica, manchas y fiebre.	NEGATIVO
C/marca	Cachipay	Santa Inés	40 días	SI	Cianosis, inapetencia.	NEGATIVO
C/marca	Fómeque	San Valentín	40 días	SI	Inapetencia	NEGATIVO
C/marca	Fómeque	El Farol	60 días	SI	Inapetencia	NEGATIVO
C/marca	Soacha	Puesto de cuarentena	3 meses	NO	Colitis fibronecrótica aguda, neumonía.	POSITIVO <i>S. enteritidis</i> <i>serTyphimurium</i>
C/marca	Soacha	Puesto de cuarentena	3 meses	SI	Colitis	POSITIVO <i>S. enteritidis</i> <i>serTyphimurium</i>
C/marca	La Vega	El Paraíso	11 días	SI	Enterocolitis	NEGATIVO
C/marca	Santandercito	La Mejorana	25 días	SI	Enterocolitis	NEGATIVO

DEPTO	MUNICIPIO	GRANJA	EDAD	PRESENCIA DE DIARREA	INFORMACIÓN GENERAL	RESULTADO
Antioquia	Caldas	La Palmera	3 meses	SI	Colitis fibronecrótica aguda	POSITIVO <i>S. enteritidis</i> <i>serTyphimurium</i>
Cesar	Valledupar	Monasterio Hnas Clarizas	2 meses	SI	Enterocolitis	NEGATIVO
C/marca	San Antonio del Tequendama	Tequendama	3 meses	SI	Enterocolitis aguda severa.	POSITIVO <i>S. enteritidis</i> <i>serTyphimurium</i>
Boyacá	Puerto Boyacá	Villa Valentina	12 días	SI	Enterocolitis	NEGATIVO
C/marca	La Calera	Hacienda Marquez	3 meses	SI	Animal muerto Dx Integral.	POSITIVO <i>S. enteritidis ser dublin</i>
C/marca	Silvania	Chicoral	40 días	NO	Inapetencia, pérdida de peso, infección pulmonar.	POSITIVO <i>S. enteritidis</i> <i>serTyphimurium</i>
C/marca	Sasaima	Villa Catrina	11 días	SI	Moderado edema en mucosa gástrica, colón, ileón.	NEGATIVO
Tolima	Honda	Mr Pig de Colombia	65 días	SI	Enteritis necrótica aguda con septicemia.	NEGATIVO
C/marca	Mesitas del Colegio	La Victoria	3 meses	NO	Enteritis necrótica, manchas y fiebre.	NEGATIVO
C/marca	Cachipay	Santa Inés	40 días	SI	Cianosis, inapetencia.	NEGATIVO
C/marca	Fómeque	San Valentín	40 días	SI	Inapetencia	NEGATIVO
C/marca	Fómeque	El Farol	60 días	SI	Inapetencia	NEGATIVO
C/marca	Soacha	Puesto de cuarentena	3 meses	NO	Colitis fibronecrótica aguda, neumonía.	POSITIVO <i>S. enteritidis</i> <i>serTyphimurium</i>
C/marca	Soacha	Puesto de cuarentena	3 meses	SI	Colitis	POSITIVO <i>S. enteritidis</i> <i>serTyphimurium</i>
C/marca	La Vega	El Paraíso	11 días	SI	Enterocolitis	NEGATIVO

### ANEXO 3. PROCEDIMIENTO PARA AISLAMIENTO BACTERIOLÓGICO DE *SALMONELLA*.



**ANEXO 4. PARÁMETROS DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD DE LAS  
SALMONELLAS FRENTE A DIFERENTES ANTIBIÓTICOS**

<b>Antibiótico</b>	<b>Referencia</b>	<b>Concentración Sensidisco</b>	<b>Resistencia</b>	<b>Sensibilidad</b>
Cefquinome (CEQ)	Oxoid	10 µg	= 14 mm	= 21 mm
Fosfomicina (FOS)	Oxoid	50 µg	= 12 mm	= 15 mm
Norfloxacin (NOR)	Oxoid	10 µg	= 12 mm	= 17 mm
Ciprofloxacina (CIP)	Oxoid	5 µg	= 15 mm	= 21 mm
Amikacina (AK)	Oxoid	30 µg	= 14 mm	= 17 mm
Gentamicina (GM)	Oxoid	10 µg	= 12 mm	= 15 mm
Neomicina (N)	Oxoid	30 µg	= 12 mm	= 17 mm
Kanamicina (K)	Oxoid	30 µg	= 13 mm	= 18 mm
Colisina (COL)		10 µg	= 8 mm	= 11 mm
Trimetropin Sulfametoxazol (SXT)	Oxoid	25 µg	= 10 mm	= 16 mm
Ampicilina Sulbactan (SAM)	Oxoid	20 µg	= 12 mm	= 15 mm
Amoxicilina (AML)	Britania	10 µg	= 13 mm	= 18 mm
Doxicilina (DO)	Britania	30 µg	= 12 mm	= 16 mm
Florfenicol (FFC)	Britania	30 µg	= 16 mm	= 21 mm
Tetraciclina (TE)	Oxoid	30 µg	= 14 mm	= 19 mm

## **ANEXO. 5 PROCEDIMIENTO SEROLÓGICO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *SALMONELLA***

1. Se adicionaron 90  $\mu$ l de Dilución Buffer en todos los pozos seleccionados para el test.
2. Seguido a esto, se agregaron 10  $\mu$ l de la pre-dilución de los controles y las muestras de suero en los tubos embalados.
3. Se llevó a incubar durante una hora a temperatura ambiente.
4. Pasado este tiempo, se lavó la placa tres veces con la solución de lavado PBS-Tween, y se añadieron 100  $\mu$ l de conjugado.
5. Se incubó durante una hora a temperatura ambiente.
6. Se repitió el paso cuatro, pero se adicionaron 100  $\mu$ l de Solución de Sustrato.
7. Se incubó a temperatura ambiente durante una diez minutos.
8. Terminado este tiempo, se adicionó 50  $\mu$ l de la Solución Stop y se leyó inmediatamente.

## ANEXO 6. SEROTIPIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS PORCINOS

<b>Muestra</b>	<b>Procedencia Departamento</b>	<b>Especie</b>	<b>Subespecie</b>	<b>Grupo</b>
1	Antioquia	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>typhimurium</i>	B
2	Cundinamarca	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>typhimurium</i>	B
3	Cundinamarca	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>dublin</i>	D
4	Cundinamarca	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>typhimurium</i>	B
5	Cundinamarca	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>typhimurium</i>	B
6	Cundinamarca	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>typhimurium</i>	B
7	Cundinamarca	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>typhimurium</i>	B
8	Cundinamarca	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>typhimurium</i>	B
9	Cundinamarca	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>typhimurium</i>	B
10	Cundinamarca	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>typhimurium</i>	B

## BIBLIOGRAFIA

- ? Acha. P y Szyfres. B. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. 3<sup>a</sup> edición. Organización Panamericana de la Salud. Washington, D.C. Estados Unidos.
- ? Baum. D. 2002. Use of the mix-ELISA for monitoring pigs for *Salmonella*.
- ? Baum. D, Harris. L and Nielsen. B. 1999. Serologic and bacteriological responses of pigs infected with three serotypes of *Salmonella*. Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork. Washington. USA.
- ? Bertschinger. H, Fairbrother J. 1999. Diseases os swine. 8<sup>th</sup> edition. Taylor Editors. 32:432-454.
- ? Biberstein. E y Zee Y. 1994. Tratado de Microbiología Veterinaria. Editorial Acribia. Zaragoza España. 119-124
- ? Caldwell.A. 1991. The *Salmonella typhimurium* virulence plasmid encodes a positive regulator of a plasmid-encoded virulence gene. Journal Bacteriology. 173:7176-7185.
- ? Carlson. A and Blaha. T. 1998. Investigations into the on-farm contamination-infection cycle of zoonotic *Salmonella* in pigs. Proceedings of the 15<sup>th</sup> IPVS Congress. Birmingham. England.
- ? Chang. C, Lin-Chu. C and Chen. M. 2002. Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Escherichia coli* and *Salmonella choleraesuis* recovered from Taiwanese swine. Journal Veterinary Diagnostic and Investigation. 14: 153-157.
- ? Cherris, J.C. 1993. Microbiología Médica. Ediciones Doyma. Barcelona España.
- ? Cano. J, Ultrera. V y Fuentes. D. 2001. Diagnóstico y control de la Salmonelosis porcina. Valencia Venezuela.
- ? Cook, J. 1990. Sprayed for natural protection of *Salmonella sp.* World Poultry.
- ? Creus. E, Mejía. W, Baucells. F and Mateu. E. 2004. Prevalence of Subclinical *Salmonella* infection and risk factors in finishing pig herds of Catalonia. Proceedings of the 18<sup>th</sup> IPVS Congress. Hamburg. Germany. Volume 2.

- ? Damman. D, Bahnson. P, Isaacson. R and Kim. J. 1998. Evaluation of *Salmonella spp* Prevalence on Illinois USA Swine Farms. Proceedings of the 15<sup>th</sup> IPVS Congress. Birmingham. England.
- ? Davies. R. 1999. Distribution of Salmonella on 23 pig farms in the UK, Proceeding of the 2 International Symposium on Epidemiology and control of Salmonella pork. Copenhagen, Denmark.
- ? Dickinson. B and company. 1998. DIFCO Laboratories. Sparks, Maryland USA.
- ? Dusch. H, Altwegg. M. 1994. Evaluation of Xilose-Lysine-Tergitol 4 (XLT4) agar and modified semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) medium for the isolation of non-typhoid *Salmonella* from stool samples. Abstr. Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. C5: 557.
- ? Dusch. H, Altwegg. M. 1995. Evaluation of five new plating medial for the isolation of *Salmonella* species. Journal of clinical Microbiology. 33: 802-804.
- ? Erdman. M, Wedel. S and Harris. D. 2003. Genotypic and phenotypic comparison of swine *Salmonella* isolates from farm and abattoir. Journal of Swine Health and Production. 11(4): 169-172.
- ? Floccari. M. 1998. Métodos de conservación de cultivos bacterianos. Revista Argentina de Microbiología. 30: 42-51.
- ? Foley. B y Maloney. G. 1999. Prevalency of *Salmonella*. Journal of Irish Medical Association. 73: 16-25.
- ? Franco. D. 1990. Salmonellosis prevention. Journal Environmental Health. 53:34-42.
- ? Funk.J. 2003. Pre-harvest food safety diagnostics for *Salmonella* serovars. Part 1: Microbiological culture. Journal of swine Health and Production. 11: 87-90.
- ? Galán. J. 1992. Involvement of the epidermal growth factor receptor in the invasion of cultured mammalian cells by *Salmonella typhimurium*. Nature. 357: 588-589.
- ? Ganter. M, Müller. K, Tegeler. R and Friedel. K. 1998. Prevalence of *Salmonella* in finishing pigs of Northwest Germany. Proceedings of the 15<sup>th</sup> IPVS Congress. Birmingham. England.
- ? García. M y Uruburu. F. 2000. La conservación de cepas microbianas. Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). Valencia España.

- ? Goodman. A. 1996. The pharmacological basis of therepeutics. 9<sup>a</sup> edition. Mc Graw Hill Companies. New York. USA.
- ? Groen. O. 2002. Salmonella control in swine herds and pigmeat. International Pig Topics. 17: 7-11.
- ? Harris. I. 1993. Prevalence of *Salmonella* organisms in swine feet. Journal of the American veterinary medicine association. 210: 382-385
- ? Harris, I. 2003. Serologic basis for assessment of subclinical *Salmonella* infection in swine: Part 1. Journal of swine Health and Production. 11: 5. 247-251.
- ? Hoorfar. J and Mortensen. V. 2000. Improved culture methods for isolation of *Salmonella* organisms from swine feces. American Journal Veterinary. 61:1426-1429.
- ? Jawetz. E, Melnick. J y Adelberg. E. 1981. Manual de Microbiología Médica. Editorial el Manual Moderno S.A. México. D.F.
- ? Kawai-Lin. T, Cardona. A, Yassin. R and Pang. T. 1996. Molecular analysis of environmental and human isolates of *Salmonella typhi*. Journal of Clinical Microbiology. 62: 271-274.
- ? Koneman. E.W. 1992. Diagnóstico Microbiológico. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires Argentina.
- ? Langer. V. 1995. The need for microbiological examination to improve the standars of fresh meat hygiene. Tierarztliches Umshau. 50:47-52.
- ? Lazo. P, Llorens. B, González. G, Valdés, M. 2000. Caracterización sanitaria de la salmonelosis porcina en un territorio de la República de Cuba.
- ? Lium. B, Hopp. P. 2004. The Prevalence of *Salmonella spp* in pigs and pork in Norway. Proceedings of the 18<sup>th</sup> IPVS Congress. Hamburg. Germany. Volume 2.
- ? Mateu. E, Martin. M, Darwich. W, Mejía. N. 2002. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* strains isolated from swine in Catalonia, Spain. The Veterinary Record. 150:147-150.
- ? Mekalanos. J. 1992. Enviromental signals controlling expresion of virulence determinants in bacteria. Journal Bacteriology. 174: 1-7.
- ? Meyerholz. D and Stabel. T. 2003. Comparasion of Early Ileal Invasion by *Salmonella enterica* serovars *Choleraesuis* and *Typhimurium*. Veterinary Pathology. 40:371-375.

- ? Mora. A, Mogollón. D, Rincón. M, Preciado. P y Peña. N. 2003. Salmonelosis Porcina en Colombia: Estudios Serológicos Preliminares en Plantas de Sacrificio. Porcicultura Colombiana. 28: 32-35.
- ? Morilla.G. 1997. Manual para el control de las enfermedades infecciosas de los cerdos. INIFAP, SAGAR Y PAIEPEME.
- ? Nielsen. B. 1996. The serological response to *Salmonella* serovars *typhimurium* and *infantis* in experimentally infected pigs. The time course followed with and indirect anti LPS ELISA and bacteriological examinations. Vet Microbiol. 47: 205-218.
- ? Papoff. M.Y, Le Minor. L. 1992. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovares. Institute Pasteur. Who collaborating centre for reference and research on *Salmonella*.
- ? Rodriguez. D, Cameron. N and Brenner. F. 1992. Comparison of plasmid profiles, phage types and antimicrobial resistance patterns of *salmonella enteritidis* isolates in the United States. Journal of clinical Microbiology. 30: 854-857.
- ? Rodríguez. J, Alvarez. M, Villareal. Y and Segura. J. 2004. Incidence and identification of *Salmonella* species in pigs on two farm systems in México. The Veterinary Record. 154: 150-152.
- ? Roesler. U, Heller. P and Altrock. A. 2004. Reduction of *Salmonella* by vaccination of sows using herds-specific inactivated vaccines but not by antibiotic treatment. Proceedings of the 18<sup>th</sup> IPVS Congress. Hamburg. Germany. Volume 2.
- ? Rojas C, Rodríguez J y Cabrera F. 1998. Bacteriología y Virología Veterinaria. Ed Acribia. Zaragoza España.
- ? Roof, M. 1993. Porcine Salmonellosis: An Immune Paradox. Lemna Swine Conference.
- ? Rostagno. M, Hurd. H and McKean. J. 2004. Bacteriological and Serological *Salmonella* prevalence in finishing pigs. Proceedings of the 18<sup>th</sup> IPVS Congress. Hamburg. Germany. Volume 2.
- ? Salyers. A and Whitt. D. 2002. Bacterial Pathogenesis. A Molecular Approach. American Society for Microbiology. ASM. PRESS. Washington USA. 381-397.
- ? Schneider, P. 2001. *Salmonella*. American Association of Swine Veterinarians. 15: 377-380.
- ? Schwartz. K, 1996. La Salmonelosis en el cerdo. Pigs Misset. 18-21.

- ? Schwartz. K, 1998. Diseases of Swine. 8<sup>TH</sup>. Iowa State University Press. USA. 535-547.
- ? Sherris.J. 1993. Microbiología Médica. Ediciones Doyma. Barcelona España.
- ? Stege. H, Christensen. J, Nielsen. J.P and Baggesen. D. 1998. Prevalence of subclinical *Salmonella enterica* infection in Danish finishing pig herds. Preventive Veterinary Medicine. 44: 175-188.
- ? Straw. B.E, Dewey. C.R and Wilson. M.L. 1999. Differential Diagnostic of swine diseases. Diseases of swine. 8<sup>th</sup> Edition. Taylor Editors. Iowa. State University press.
- ? Torres. M, Hernández. V y Valenzuela. S. 1994. La serología en enfermedades infecciosas de la especie porcina. Revista del Ceisa. 1: 34-39.
- ? Usera. M, Cano. R y Echeital. A. 1994. Análisis the serotypes of *Salmonella spp* isolates in España. Enfermedades infecciosas y Microbiología clínica. 13: 138-145.
- ? Vadillo S, Piriz. S y Mateus S. 2000. Manual de Microbiología Veterinaria. Editorial Mc Graw Hill. Mexico D.F. 327-337.
- ? Wilcock. B. 1992. Salmonellosis in diseases of swine. 7<sup>th</sup> ed. Iowa State University Press.
- ? Wingstrand. D and Wong. L. 1999. *Salmonella*-prevalences in Danish organic, free- range, conventional and breeding herds. Danish Veterinary Laboratory. Copenhagen Danish.
- ? Wong. D, Dahl. J and Wolf. P. 2003. Recovery of *Salmonella enterica* from seropositive finishing pig herds. Veterinary Microbiology. 97: 201-214.
- ? Wood. R. 1992. Populations of *Salmonella typhimurium* in internal organs of experimentally infected carrier swine. American Journal of veterinary Research. 53: 653-657.
- ? Yang. S, Park. K and Kim. H. 2002. Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovares *Enteritidis* and *Typhimurium* isolated from animals in Korea: comparison of phenotypic and genotypic resistance characterization. Veterinary Microbiology. 86: 295-301.



## PREVALENCIA SEROLÓGICA DE SALMONELOSIS EN GRANJAS PORCINAS INTENSIVAS DE COLOMBIA \*

Escobar, Bibian Andrea<sup>1</sup>; Mogollón, José Darío<sup>2</sup>; Rincón, María Antonia<sup>3</sup>; Peña B, Néstor<sup>4</sup>; Hernández, Ivonne<sup>5</sup>; Preciado, Patricia<sup>6</sup>. \*\*

---

### INTRODUCCIÓN

Las bacterias y en especial las Enterobacterias patógenas son de gran importancia en la porcicultura, ya que causan la mayoría de las enfermedades diarreicas que afectan a los cerdos en las diferentes etapas de su ciclo productivo, lo que conlleva a altas pérdidas económicas en la producción, disminuyendo por ende la rentabilidad de las explotaciones.

La mayoría de las especies de Enterobacterias están categorizadas como patógenos oportunistas, algunas sin embargo atacan potente y específicamente el tracto gastrointestinal y de éstas el género *Salmonella* es uno de los más importantes de esta familia.

Las salmonelas son microorganismos patógenos intracelulares facultativos; esta característica es considerada un mecanismo de virulencia importante, ya que les permite protegerse de la acción del sistema inmune del hospedador y continuar los procesos de diseminación (8).

La salmonelosis fue descrita por primera vez hace más de 100 años y hoy continúa siendo una causa importante de enfermedad en cerdos y un problema de salud pública.

La *Salmonella typhi*, fue el primer miembro de las salmonelas reconocido como patógeno, esta fue reportada por primera vez en 1880 por Eberth y fue aislada en 1884 por Gaffky.

Más tarde fueron aisladas otras salmonelas asociadas con procesos de enfermedad. Salmón y Smith aislaron en 1885 la *S. choleraesuis* y en el mismo año Gaether aisló a *S. enteritidis*. En 1892 Loeffler aisló la *S typhimurium*. Posteriormente se continuó con la identificación y clasificación de estas bacterias y los estudios culminaron con la adopción de la terminología y la esquematización serológica de Kauffman y White (21).

Actualmente, se recomienda el uso del “concepto de tres especies” en la nomenclatura de la *Salmonella*. De acuerdo con este concepto solamente se reconocen tres especies de *Salmonella*. Estas son, *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella enteritidis*. A título de ejemplo, *Salmonella typhimurium*, como era conocida antiguamente, se convertiría en *Salmonella enteritidis ser typhimurium* (13).

---

\* Contribución del Laboratorio Nacional de Diagnóstico Instituto Colombiano Agropecuario ICA.

\*\* Respectivamente: 1. Microbióloga U. Javeriana 2. Médico Veterinario UNAL. 3. Médico Veterinario y

Las bacterias del género *Salmonella* son bacilos anaeróbicos facultativos, gram negativos, móviles, no formadores de esporas y con flagelos peritricos (con excepción de *S. pullorum* y *S. gallinarum*), poseen fimbrias pero carecen de cápsula y metabolizan la glucosa tanto por vía respiratoria como fermentativa.

El género *Salmonella* posee principalmente dos clases de antígenos: el “O” o antígeno somático termoestable y el “H” o antígeno flagelar termolábil. La identificación serológica de las salmonelas se basa en la determinación de componentes antigénicos específicos presentes en la membrana de estos microorganismos. En primer lugar, el microorganismo es clasificado dentro del grupo “O,” de acuerdo con su composición somática y luego es confirmado por la identificación de su antígeno “H” flagelar (13).

El antígeno somático “O” es un polisacárido termoestable asociado con el cuerpo de la célula. Es el primer antígeno que se determina en serología, utilizando la técnica de aglutinación en placa para agrupar el microorganismo dentro de la especie *Salmonella*. Los anticuerpos contra los antígenos “O” son inmunoglobulinas del tipo IgM que han sido asignados con números en orden consecutivo del 1 al 64, utilizando el sistema numérico árabe. La salmonela se divide en serogrupos de la A hasta la Z, dependiendo de su contenido somático (19).

El antígeno flagelar “H” termolábil, es una proteína que se identifica usando una técnica de aglutinación en tubo para determinar el serotipo de *Salmonella*. Este antígeno generalmente está asociado con la movilidad del microorganismo, aunque se conocen algunos cultivos no móviles que poseen flagelos (10).

En general, la mayoría de salmonelas tienen dos antígenos “H” diferentes que se producen en fases denominadas 1 y 2; los organismos tienden a mutar de una fase a otra y a esto se le conoce como variación de fase.

Ocasionalmente puede estar presente un tercer tipo de antígeno, denominado antígeno “Vi”, este es termolábil de cobertura, rodea la pared celular y enmascara al antígeno somático convirtiendo al microorganismo en no-aglutinable en sueros O. Las cepas que poseen el antígeno “Vi” tienden a ser más virulentas que aquellas que carecen de el (10).

En los porcinos, la salmonelosis se puede presentar en tres formas diferentes a saber: septicemia, enteritis aguda y enteritis crónica. La enfermedad afecta a cerdos de todas las edades y su distribución es mundial, su incidencia ha aumentado con la intensificación de la producción de animales de granja (4).

La salmonelosis septicémica es causada por la *S. choleraesuis*, la cual es transmitida por el contacto (fecal oral) con animales portadores. Sus principales síntomas involucran hiperemia de la piel, cianosis, disnea, tos, anorexia, letargia, emaciación y disminución del consumo de alimento, entre otros. Los animales mueren súbitamente y los que sobreviven usualmente terminan con diarrea. Esta forma clínica se presenta en animales menores de cinco meses (18). En la necropsia se evidencia congestión de la mucosa gástrica, esplenomegalia moderada, inflamación de los ganglios linfáticos mesentéricos, pulmones difusamente congestionados y focos blanquecinos multifocales en el hígado (7).

Dentro de las lesiones microscópicas la más representativa es la presencia en el hígado de nódulos paratifoideos (focos de necrosis de coagulación con infiltración de histiocitos), que corresponden a las áreas blanquecinas vistas macroscópicamente (18).

La enterocolitis causada principalmente por *S. typhimurium* afecta animales desde el destete hasta los cinco meses de edad. Clínicamente se observa diarrea acuosa amarillenta (en algunos casos sanguinolenta), fiebre, anorexia y deshidratación (7).

Las lesiones macroscópicas más representativas a la necropsia son: colitis necrótica difusa, tiflitis, adherencias crónicas amarillentas en la superficie de la mucosa del ciego y del colon en espiral, formando algunas veces úlceras botonosas. El intestino se encuentra edematoso, con manchas de bilis y con material arenoso de color negro. Los ganglios linfáticos ileocecales están aumentados de tamaño y húmedos.

En cuanto a las lesiones microscópicas es común observar necrosis de las criptas intestinales, la lámina propia y la submucosa presentan numerosos macrófagos y moderado número de linfocitos, los neutrófilos son numerosos en las lesiones tempranas. En el íleon y el colon generalmente se presenta inflamación y un engrosamiento y generalmente aparecen restos necróticos en la superficie de la mucosa (7).

Los cerdos son un reservorio importante de *Salmonella* para el hombre, por tal razón en países altamente productores de cerdos se han venido instaurando acciones de vigilancia epidemiológica en las diferentes etapas de la cadena productiva.

Debido a que a nivel mundial y especialmente en los últimos años, la salmonelosis es considerada como una de las enfermedades zoonóticas más relevantes ya que sus antecedentes serológicos así lo confirman; se realizó en Colombia un estudio serológico en granjas porcinas de tipo intensivo con el fin de conocer la situación actual de esta infección en este tipo de explotaciones.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Para efectos de este estudio, la población a marzo de 2004 estaba constituida por 5072 sueros porcinos pertenecientes a madres multíparas y cerdos de ceba de 188 granjas intensivas localizadas en los departamentos de Antioquia, Atlántico, Bolívar, Boyacá, Cauca, Caldas, Cundinamarca, Huila, Meta, Quindío, Risaralda, Santander, Tolima y Valle, recolectados entre los años 2000 y 2004, los cuales reposan en el Banco de Sueros del Laboratorio Nacional de Enfermedades Porcinas del ICA-CEISA en Bogotá.

El tamaño de muestra calculado se fundamentó en el muestreo simple al azar, asumiendo un nivel de confianza del 95%, un margen de error del 10% con relación a la estimación y una prevalencia del 25% para la salmonelosis porcina en las granjas intensivas del país, dado que estudios preliminares habían permitido establecer una prevalencia puntual de 27.2% para esta condición (11).

De acuerdo con lo anterior, se obtuvo un tamaño de muestra mínimo de 1152 sueros, los cuales se distribuyeron proporcionalmente según la categoría (madres multíparas y cerdos de ceba) existentes en cada granja. Los sueros a estudiar de cada una de las granjas fueron seleccionados estrictamente al azar.

## RESULTADOS

Con el objeto de aumentar el conocimiento sobre la situación de la enfermedad, el tamaño de muestra obtenido se adicionó en 74 sueros de madres y cerdos de ceba de otras 13 granjas intensivas incluídas en el Banco de Sueros entre marzo y junio de 2004. En los 1226 sueros analizados pertenecientes a madres multíparas y cerdos de ceba, se encontraron 709 reactores positivos, lo cual equivale a establecer una prevalencia puntual para la infección de  $57.8 \pm 5.7\%$ , es decir que ésta no sería menor de 52.1% ni mayor de 63.5% ( $p=0.05$ ) (Tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia serológica de salmonelosis en granjas porcinas intensivas de Colombia.

DEPTO	MUNICIPIOS (No.)	GRANJAS (No.)	POBLACIÓN (Sueros)No.		PREVALENCIA (%)		TOTAL (%)
			Madres Multíparas	Cerdos de Ceba	Madres Multíparas	Cerdos de Ceba	
Antioquia	27	90	394	167	67,2	49	61.8
Atlántico	1	1	4	4	4/4	2/4	68
Bolívar	1	1	4	3	2/4	0/3	27
Boyacá	1	2	8	3	3/8	1/3	4/11
Caldas	8	12	44	26	61,3	65,4	62.8
Cauca	1	2	8	4	3/8	1/4	4/12
C/marca	15	29	111	60	78,3	30,0	61.4
Huila	5	6	21	11	14/21	6/11	62.5
Meta	4	6	26	12	11/26	5/12	42.1
Quindío	2	2	8	5	4/8	0/5	4/13
Risaralda	4	14	55	27	78.1	10/27	64.6
Santander	1	1	3	2	2/3	0/2	2/5
Tolima	3	5	21	10	8/21	5/10	41.9
Valle	17	30	129	57	58,1	24,5	47.8
<b>Total 14</b>	<b>90</b>	<b>201</b>	<b>836</b>	<b>391</b>	<b>65,5</b>	<b>41,1</b>	<b>57,8</b>

En total se evaluaron 201 granjas intensivas de 14 departamentos, las cuales resultaron todas rectoras a *Salmonella typhimurium*, *S. choleraesuis* y *S. infantis*, al contener al menos un suero reactor a la prueba utilizada Covalent mix-ELISA (SVANOVIR), diseñada para detectar anticuerpos directos contra *S. typhimurium*, *S. choleraesuis* y *S. infantis*, la cual detecta anticuerpos directos contra epítopes de los lipopolisacáridos (LPS) de los antígenos O 1, 4, 6, 7 y 12; teóricamente detecta anticuerpos contra *Salmonella* pertenecientes a los serogrupos B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, y D (12). El punto de corte de la ELISA es en OD = 40%.

La infección se encontró presente en todos los departamentos, estableciéndose las mayores prevalencias respectivamente en Risaralda, Caldas, Huila, Antioquia, Valle y Cundinamarca (Tabla 1). El departamento de Antioquia presentó a su vez los

municipios con las mayores tasas de prevalencia a saber: Don Matías 76.1%, Caldas 71.0%, Medellín 66.6%, San Pedro 60.9%, Santa Rosa de Osos 56.2% y Tamésis 54.2%. Es de destacar también las prevalencias de Santuario en Risaralda con 67.7% y Palmira en el Valle con 50.0%.

En lo que a la categoría de los animales se refiere, la prevalencia fue del 65.5% para las madres multíparas y del 41.1% para los cerdos de ceba (Tabla 1), estableciéndose en general en el caso de los departamentos que la prevalencia es mayor en el grupo de las madres que en el de los cerdos de ceba.

## DISCUSIÓN

El análisis serológico llevado a cabo en este estudio, evidenció la respuesta inmune frente a *Salmonella typhimurium*, *S. choleraesuis* y *S. infantis* en una población porcina representativa de las granjas de tipo intensivo localizadas a lo largo del territorio nacional en los departamentos donde predomina este tipo de explotación.

En Colombia los primeros informes de salmonelosis en porcinos se realizaron en el año de 1947, cuando se aisló *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella typhi* en animales con sintomatología clínica (14). En el año 2003 se encontró una prevalencia del 27.2% (11) en un estudio realizado en plantas de beneficio de Bogotá, en donde la muestra evaluada fueron jugos cárnicos (homogenizados musculares), los que son considerados fuentes alternas de anticuerpos cuando se trabaja a nivel post-mortem, dada la poca disponibilidad de sueros en estos casos (12).

La seroprevalencia a *Salmonella* encontrada en este estudio, es muy superior a la establecida en otros países. Por ejemplo, en Noruega fue de 23.7% en 1996, de 24.5% en 1999 (11) y en el 2004 se encontró que oscilaba entre 0% y 0.15% luego de llevarse a cabo un programa de vigilancia (9).

La prevalencia de *Salmonella* en cerdos en Dinamarca fue reportada por Harris en el 2003 con una disminución de 3.5% en 1993 a 0.7% en el 2000. Antes de iniciar el programa de control se tenía una prevalencia de 5-7% en este país (20).

En Estados Unidos en el año de 1998 Damman y colaboradores llevaron a cabo una evaluación de la prevalencia de *Salmonella* en cerdos en etapa de engorde, la cual resultó ser del 28%; sin embargo, estudios recientes demuestran que la frecuencia de encontrar cerdos positivos es del 6.0% al 24.6% en muestras de suero (5) y del 12.9% en muestras bacteriológicas (17).

Los estudios realizados en el noroeste de Alemania reportan una prevalencia de salmonelosis del 3.5% (6), la cual es muy baja si se compara con la reportada por investigadores en Cataluña, España que fue del 39% en cerdos de engorde para ambos casos (2).

La alta tasa de prevalencia del 57.8% establecida en este estudio podría explicarse por la presencia en las explotaciones intensivas del país de una serie de factores de riesgo que

puedan estar contribuyendo a la diseminación individual o colectiva de la *Salmonella* como son: las condiciones de estrés, el tipo de sistema de producción, el mal estado del alimento, la presencia de insectos y roedores y la localización geográfica de las granjas, siendo este último un factor importante, ya que en un área con una alta densidad de granjas se corre el riesgo de que la enfermedad se disemine con mayor rapidez (15); pudiendo ser este el caso de los municipios y departamentos en donde se encontraron las mayores prevalencias, sumado a esto la deficiente bioseguridad e higiene de muchas de las granjas (11).

La mayor seropositividad para las madres multíparas, las que en casi todos los departamentos resultaron con una tasa de prevalencia más alta en comparación con los cerdos de ceba, podría explicarse tal como lo menciona Roof en 1993 (16) a que en las granjas convencionales o de flujo continuo que son las predominantes en Colombia, las madres son el mayor reservorio de un sinnúmero de microorganismos incluida la *Salmonella*, dada su mayor permanencia dentro de las explotaciones.

Ahora bien, aunque la seroprevalencia en la categoría de cerdos de ceba no fue comparativamente tan alta con el de las madres, sí se considera de la mayor importancia este hallazgo por razones de salud pública, debido a que a nivel de las plantas de beneficio estos animales tienen un mayor flujo en comparación con las cerdas de cría que permanecen durante largos períodos de tiempo en las granjas antes de ser descartadas para sacrificio (1).

De acuerdo con la clasificación de Wingstrand y Wong (22), las granjas colombianas intensivas pueden catalogarse en los niveles 1, 2, y 3 de infecciosidad si se tiene en cuenta que en el nivel 1 el grado de infección es leve (10%), seguido por el nivel 2 en donde se considera que la infección se ha incrementado (20-25%) y terminando en el nivel 3 en el cual la infección es considerada alta (>60%), en estos tres niveles se aconseja implantar medidas adecuadas de bioseguridad e higiene, tendiendo a prevenir y controlar esta infección, no solo por el impacto de la enfermedad en la salud de los animales sino por el riesgo zoonosario que representan estos altos niveles de prevalencia.

Teniendo en cuenta la importancia de la enfermedad desde el punto de vista del comercio internacional de carnes y productos de origen animal, es urgente implementar un sistema de vigilancia y control que involucre toda la cadena productiva.

## REFERENCIAS

1. Baum. D. 2002. Use of the mix-ELISA for monitoring pigs for Salmonella. Boehringer NOBL Laboratories. Inc. Ames. IA .
2. Creus. E, Mejía. W, Baucells. F and Mateu. E. 2004. Prevalence of Subclinical Salmonella infection and risk factors in finishing pig herds of Catalonia. Proceedings of the 18<sup>th</sup> IPVS Congress. Hamburg. Germany. Volume 2.
3. Damman. D, Bahnson. P, Isaacson. R and Kim. J. 1998. Evaluation of Salmonella spp Prevalence on Illinois USA Swine Farms. Proceedings of the 15<sup>th</sup> IPVS Congress. Birmingham. England.

4. Dusch. H, Altwegg. M. 1995. Evaluation of five new plating media for the isolation of *Salmonella* species. *Journal of Clinical Microbiology*. 33: 802-804
5. Funk. J. 2003. Pre-harvest food safety diagnostics for *Salmonella* serovars. Part 1: Microbiological culture. *Journal of Swine Health and Production*. 11: 87-90
6. Ganter. M, Müller. K, Tegeler. R and Friedel. K. 1998. Prevalence of *Salmonella* in finishing pigs of Northwest Germany. *Proceedings of the 15<sup>th</sup> IPVS Congress*. Birmingham. England.
7. Harris. I. 1993. Prevalence of *Salmonella* organisms in swine feet. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 210: 382-385
8. Lazo. P, Llorens. B, González. G, Valdés, M. 2000. Caracterización sanitaria de la salmonelosis porcina en un territorio de la República de Cuba. *The Veterinary Record*. 112: 98-101
9. Lium. B, Hopp. P. 2004. The Prevalence of *Salmonella* spp in pigs and pork in Norway. *Proceedings of the 18<sup>th</sup> IPVS Congress*. Hamburg. Germany. Volume 2.
10. Mekalanos. J. 1992. Environmental signals controlling expression of virulence determinants in bacteria. *Journal Bacteriology*. 174: 1-7
11. Mora. A, Mogollón. D, Rincón. M, Preciado. P y Peña. N. 2004. Salmonelosis Porcina en Colombia: Estudios Serológicos Preliminares en Plantas de Sacrificio. Bogotá Colombia. *Porcicultura Colombiana*. 90: 32-33
12. Nielsen. B. 1996. The serological response to *Salmonella* serovars typhimurium and infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with and indirect anti LPS ELISA and bacteriological examinations. *Veterinary Microbiology*. 47: 205-218
13. Papoff. M.Y, Le Minor. L. 1992. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. Institute Pasteur. WHO collaborating centre for reference and research on *Salmonella*.
14. Pedersen. G. 2002. *Salmonella* control in swine herds and pigmeat. *International Pig Topics*. 17: 7-11.
15. Rodríguez. J, Alvarez. M, Villareal. Y and Segura. J. 2004. Incidence and identification of *Salmonella* species in pigs on two farm systems in México. *The Veterinary Record*. 154: 150-152.
16. Roof, M. 1993. Porcine salmonellosis: An Immune Paradox. *Leman Swine Conference*.
17. Rostagno. M, Hurd. H and McKean. J. 2004. Bacteriological and Serological *Salmonella* prevalence in finishing pigs. *Proceedings of the 18<sup>th</sup> IPVS Congress*. Hamburg. Germany. Volume 2.
18. Schneider, P. 2001. *Salmonella*. *American Association of Swine Veterinarians*. 15: 377-380.
19. Soria. F. *Manual Difco*. 1986. 10<sup>a</sup> Edición. Madrid España.
20. Stege. H, Stryhn. H, Christensen. J and Nielsen. J. 1998. Prevalence and Diversity of *Salmonella* serotypes isolated from feed samples collected from the cribs in 96 Danish pig herds. *Proceedings of the 15<sup>th</sup> IPVS Congress*. Birmingham. England.
21. Vadillo S, Piriz. S y Mateus S. 2000. *Manual de Microbiología Veterinaria*. Editorial Mc Graw Hill. Mexico D.F. 327-337

22. Wingstrand. D and Wong. L. 1999. Salmonella-prevalences in Danish organic, free- range, conventional and breeding herds. Danish Veterinary Laboratory. Copenhagen Danish.