



Determinación de seropositividad de Salmonella spp. en muestras de porcinos del laboratorio ZOOLAB - Colombia año 2017.

Angie Paola Forero Camacho
Katherine Andrea Ramírez Arias

Trabajo de investigación para optar al título de bacterióloga y laboratorista clínico

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ, 2019



Determinación de seropositividad de Salmonella spp. en muestras de porcinos del laboratorio ZOOLAB - Colombia año 2017

Presentado por:

Angie Paola Forero Camacho
Katherine Andrea Ramírez Arias

Asesora interna

MSc. Johanna Marcela Moscoso Gama
Magister en Ciencias Biológicas

Asesora externa

Paula Alejandra Luque Isaza
Bacterióloga y Laboratorista Clínico

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ, 2019

Dedicatoria

Quiero dedicar este logro principalmente a Dios por guiar mis pasos para permitirme llegar tan lejos, por la fortaleza, paciencia y demás virtudes que han sido necesarias para poder culminar este trabajo. A mis padres por tanto amor y paciencia que me han entregado siempre, por su compañía y consejos y sobre todo por luchar día a día para que sus hijos lleguen lejos. Papi gracias por ese esfuerzo tan grande que haces en tu trabajo, no dormir y estar varios días lejos de casa con el fin de que nunca nos falte nada; Mami gracias por consentirnos, ser amiga y confidente, gracias por ayudarnos siempre que ha sido necesario. A mi hermano José por todo el apoyo, consejos, por protegerme y darme cariño durante toda mi vida. A mis perros Nicky y Jerry, por el amor y porque han sido mis compañeros fieles en cada noche que seguía trabajando en el proyecto. A Fernanda y Juan José por su compañía y amor; y A toda mi familia por su amor, comprensión y por sus palabras de ánimo para siempre seguir adelante. A Diego por su apoyo incondicional, compañía, paciencia, confianza, enseñanzas y amor durante estos 5 años de universidad.

A mis maestros del colegio y de la universidad que me han dado grandes enseñanzas para mi vida personal y profesional, y sobre todo por enseñarme a amar esta profesión; a mis compañeros de la universidad y a mi compañera de tesis por ser un apoyo incondicional y darme ánimo para dar siempre lo mejor.

Paola Forero C.

A quienes me han apoyado incondicionalmente y en realidad se merecen el verdadero significado del amor, paciencia, tolerancia, respeto y demás valores inculcados. Esas personas que cuando sentía que resultaría imposible me dieron todo de sí mismos, para que siguiera luchando por mis sueños: mi madre, que siempre me lleva en sus oraciones, me alimenta, me mimó, me ama. Mi padre, quien me enseñó que en la guerra siempre se sonríe para que las cosas sean más amenas, que NUNCA me dejó rendirme. Mis hermanos quienes me protegen como la cuba de la casa, mi hermana quien me regaló la sutileza de la belleza, hoy no tengo con qué agradecerles, por eso entrego a ellos todos mis triunfos.

A quienes me dieron parte de su tiempo, conocimiento, me escucharon, me ayudaron en todo el proceso de enseñanza y formación: esos maestros, compañeros y amigos, que siempre, por más compromisos que tuvieran estaban dispuestos a regalar esos cinco minutos de discusión, planeación y perfección en la tarea del ser profesional. En especial quiero mencionar a la profesora Johanna Moscoso, quien me ha ayudado con tanto sin recibir más que palabras de gratitud por su acompañamiento.

A aquella persona que me recibió en su hogar, confió en mí y me guardó paciencia: mi compañera de tesis, quien hoy deja marcado en mí el hoy por ti, mañana por mí.

Katherine Ramírez A.

Agradecimientos

Queremos expresar nuestros más grandes agradecimientos a la profesora Johanna Moscoso asesora interna y a la doctora Paula Luque asesora externa del proyecto, su dedicación y apoyo han sido la base para que este trabajo culminara con el debido carácter profesional que amerita; por el respeto y atención a nuestras sugerencias e ideas. Gracias por la confianza ofrecida desde que tomamos el proyecto.

Así mismo, agradecemos al laboratorio Zoolab S.A.S por capacitarnos con su personal, usando sus instalaciones, equipos, financiando todo el proceso investigativo; a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, por darnos el fundamento durante nuestro proceso de formación, ayudándonos a ser excelentes profesionales en pro al servicio de la sociedad. Así mismo al semillero Enfermedades Crónicas, Zoonóticas y Adquiridas (ECZA), por abrirnos las puertas al mundo de la investigación, haciéndonos partícipes en congresos, fortaleciendo la confianza de nuestras capacidades.

Agradecemos a nuestras familias por su apoyo incondicional, amor, entrega y paciencia durante el proceso formativo, cada uno de éstos lo tomamos como la base primordial para crecer integralmente. Nuestro trabajo también es suyo, sin su ayuda hubiera sido arduo llegar a este punto, es por eso que compartimos nuestros sueños hechos realidad de su mano, con la mayor admiración y respeto.

A todos, muchas gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

1. Antecedentes	15
2. Marco referencial	23
2.1 Características generales de <i>Salmonella spp.</i>	23
2.2 Taxonomía de <i>Salmonella spp.</i>	24
2.3 Patogénesis de <i>Salmonella spp</i> en el intestino del porcino	24
2.4 Factores de virulencia de <i>Salmonella spp.</i>	25
2.5 Transmisión de la salmonelosis en porcinos	29
2.6 Factores de riesgo en la transmisión de salmonelosis porcina	30
2.7 Manifestaciones clínicas de salmonelosis en porcinos	31
2.8 Métodos diagnósticos	32
2.8.1 Técnicas microbiológicas	32
2.8.2 Técnicas serológicas	33
2.8.3 Técnica molecular	34
2.9 Tratamiento en porcinos	35
2.10 Vacunas	35
2.11 Prevención y control	36
2.12 Razas de porcinos de Colombia	37
2.13 <i>Salmonella spp.</i> como causante de enfermedad transmitida por alimentos	37
2.14 Porcicultura en Colombia	38
2.15 Manifestaciones clínicas de salmonelosis en humanos	41

3. Objetivos	42
3.1 Objetivo general	42
3.2 Objetivos específicos	42
4. Diseño Metodológico	43
4.1. Tipo de estudio	43
4.1.1 Universo	43
4.1.2 Población	43
4.1.3 Muestra	43
4.2 Variables	43
4.2.1 Variables independientes	43
4.2.2 Variables dependientes	43
4.3 Técnica y procedimiento	43
4.3.1 Técnica	43
4.3.2 Análisis estadístico	43
5. Resultados	45
6. Discusión	59
7. Conclusiones	62
8. Recomendaciones	63
9. Referencias bibliográficas	64
10. Anexos	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Total de población porcina por departamento.	45
Tabla 2: Total de población porcina por municipio.	46
Tabla 3: Total de población porcina por sexo.	48
Tabla 4: Total de población porcina por raza.	49
Tabla 5: Seropositividad de <i>Salmonella spp</i> en el año 2017.	50
Tabla 6: Seropositividad de <i>Salmonella spp</i> por departamento en Colombia, año 2017.	51
Tabla 7: Seropositividad de <i>Salmonella spp</i> por mes, año 2017.	53
Tabla 8: Asociación de seropositividad de <i>Salmonella spp</i> . según las razas.	55
Tabla 9: Asociación de seropositividad de <i>Salmonella spp</i> . según el sexo.	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Salmonella spp</i> . en tercera dimensión.	23
Figura 2: Inmunidad del tracto gastrointestinal del porcino frente a <i>Salmonella spp</i> .	25
Figura 3: estructura del Lipopolisacárido "O", antígeno de superficie.	27
Figura 4: Reconocimiento y señalización de <i>Salmonella spp</i> .	29
Figura 5: Transmisión de <i>Salmonella spp</i> .	30
Figura 6: Mapa distribución población porcina en Colombia, año 2017	40
Figura 7: Porcentaje de porcinos por sexo.	48
Figura 8: Porcentaje de porcinos por raza.	49
Figura 9: Seropositividad de <i>Salmonella spp</i> en Colombia en el año 2017.	50

Figura 10: Porcentaje de muestras seropositivas y seronegativas de <i>Salmonella spp.</i> en porcinos de diferentes departamentos de Colombia, año 2017.	52
Figura 11: Mapa de casos agrupados, seropositividad de <i>Salmonella spp</i> en diferentes departamentos de Colombia, año 2017.	53
Figura 12: Seropositividad de <i>Salmonella spp.</i> mensual en diferentes departamentos de Colombia durante el año 2017.	54
Figura 13: Seropositividad de <i>Salmonella spp.</i> mensual en diferentes departamentos de Colombia en comparación al climograma durante el año 2017, Climate Data Org.	55

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: inserto de PrioCHECK™ Porcine <i>Salmonella</i> Kit.	76
---	----

Determinación de seropositividad de *Salmonella spp.* en muestras de porcinos del laboratorio ZOOLAB - Colombia durante el año 2017.

RESUMEN

La salmonelosis es una enfermedad que afecta a hombres y animales, considerada así una de las zoonosis más importantes a nivel mundial; esta enfermedad es causada por la bacteria *Salmonella spp.* caracterizada por ser un bacilo Gram negativo, con flagelos peritricos y por poseer más de 2.500 serotipos.

Salmonella spp. puede propagarse en todo el hato con tan sólo un animal portador, siendo éste uno de los principales problemas para los porcicultores, la enfermedad suele presentarse de manera asintomática e inespecífica, afectando animales con el sistema inmune débil.

En el presente estudio, se analizaron 1.460 sueros de porcinos provenientes de 12 departamentos de Colombia, estos fueron suministrados por el banco de sueros del laboratorio Zoolab, para la determinación de seropositividad de *Salmonella spp.*

Se realizó la técnica de ELISA indirecta, para detectar en la muestra la presencia del anticuerpo anti-salmonella, a partir de un anticuerpo anti-porcino marcado, éste genera color y su intensidad es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo presente. Posteriormente se desarrolló el análisis estadístico, usando los programas SPSS y EPI INFO.

La seropositividad hallada fue de 40,3%. El departamento que aportó más muestras en estudio fue Valle del Cauca, y los departamentos con una seropositividad mayor al 70% fueron Quindío, Huila y Boyacá. Las hembras mostraron mayor seropositividad que los machos con 41,0% y la raza con mayor seropositividad fue Pic con 79,0%. En conclusión *Salmonella spp.* es un patógeno de distribución mundial y de importancia en salud pública.

Palabras clave: *Salmonella spp*, seropositividad, porcinos, Colombia, zoonosis.

Autores: Angie Paola Forero Camacho, Katherine Andrea Ramírez Arias.

Asesores: Johanna Marcela Moscoso Gama, Paula Alejandra Luque Isaza.

INTRODUCCIÓN

Salmonella spp. es un agente bacteriano con más de 2.500 serotipos, de los cuales la mayoría se identifican como patógenos para el ser humano. Se caracteriza por ser un bacilo móvil con flagelos peritricos, Gram negativo, fermentador de glucosa. La enfermedad que produce se conoce como salmonelosis y se transmite de animales a humanos, lo que quiere decir que es una zoonosis, así mismo, hace parte de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), la transmisión se da principalmente por el consumo de carne mal cocinada, ingestión de agua contaminada y contacto directo con un animal infectado.

Salmonella spp. se caracteriza por ser capaz de sobrevivir a las diferentes características del sistema digestivo, tales como la acidez que produce el estómago y la osmolaridad del intestino delgado. La bacteria se introduce por medio de células epiteliales intestinales del íleon y resiste la fagocitosis de los macrófagos (células blanco de infección, donde puede evadir actividad lítica, y así lograr la replicación¹, y posteriormente se ubica en los ganglios linfáticos.

Salmonella spp. también afecta al sector económico, en éste caso, para los porcicultores, dado que en la producción de carne, puede aumentar el tiempo necesario para que el animal alcance el peso de sacrificio, al observar lotes no uniformes y pérdida de producción. Una de las razones, es que muchos de los porcicultores no tienen conocimiento de cómo se diagnostica esta enfermedad y por ende no acuden de manera inmediata a los servicios especializados cuando detectan los síntomas en el animal, además incumplen con el esquema de vacunación, siendo los pequeños porcicultores los más recurrentes en esta problemática. Esto aumenta los costos en tratamientos y/o planes preventivos, para su posterior erradicación.

Igualmente, se deben tener en cuenta los aportes científicos, con el fin de innovar y agregar datos epidemiológicos para la historia de la presencia de *Salmonella spp.*, identificando los diferentes mecanismos de transmisión y diseminación; dado que no existe proporción exacta entre causa y efecto, los pequeños efectos de la enfermedad pueden determinar grandes causas o viceversa, evaluando así, si las

diferentes formas de eliminación descritas de la bacteria son eficaces o hay que plantear nuevos métodos para el control de ésta.

Por tanto, se ve la necesidad de hacer estudios que representen la seropositividad de *Salmonella spp.* en el país, mostrando la distribución geográfica, para identificar dónde se encuentran las zonas de mayor afectación porcicultora; esto como iniciativa para que los porcicultores tomen medidas de control frente a la enfermedad y se logren disminuir las pérdidas económicas que ésta ocasiona.

1. ANTECEDENTES

Para empezar a hablar de la salmonelosis en porcinos, se hizo una revisión de literatura dando importancia a Sur América y a Colombia, llegando a diferentes departamentos del país, donde ésta enfermedad tiene una gran seropositividad con relación a las muestras obtenidas.

Klein E. en 1884, realiza la descripción de la bacteria *Salmonella spp.*, ésta hace parte de la familia Enterobacteriaceae, género *Salmonella*. Se caracteriza por habitar el tracto gastrointestinal de personas y animales. Pertenece a un grupo de bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, con flagelos peritricos para su movilidad y sobrevive a temperaturas de 7°C a 45°C. A su vez, se conoce que muchos de sus serotipos son patógenos para los animales, pero aun así, afectan al hombre accidentalmente ².

En 2001, Van der Wolf escribe acerca de la seropositividad de *Salmonella* en cerdos en 406 rebaños de países bajos durante los años 1996 y 1999, para este estudio se usó la técnica ELISA indirecta, su positividad fue de 23.7% en 1996 y 24.5% en 1999, siendo las hembras las que mostraron una mayor positividad, sobre todo en el año 1999. Otra parte del análisis mostró el porcentaje de prevalencia de *Salmonella* en dichos rebaños, donde el 69.7% tenía una baja prevalencia, el 21.7% mostró un prevalencia moderada y el 8.6% una alta prevalencia³.

En el año 2002, Lo Fo Wong et al, publican un artículo, cuyo objetivo fue analizar las medidas de control que se llevan a cabo durante la cadena de producción de cerdos, puesto que uno de los factores para que se dé la salmonelosis humana, es el consumo de carne de cerdo contaminada; se llevó a cabo un análisis epidemiológico de los diferentes momentos en los que se pueden contaminar dichos cerdos, como el tiempo de levante y engorde, transporte al sitio de sacrificio y el momento del sacrificio. Los datos que caben resaltar mencionados por los autores, son los tres factores principales que influyen en la calidad microbiológica de la carne de cerdo: la manipulación, el tiempo y la cadena de frío⁴.

También, en 2003 Lo Fo Wong et al, dan a conocer su estudio, en el cual se evalúan para 77 rebaños de Dinamarca, Países Bajos, Grecia y Alemania la positividad de *Salmonella* spp. en materia fecal de animales que han sido clasificados como seropositivos por medio de ELISA indirecta, que detecta una mezcla de anticuerpos contra antígenos O de *salmonella*. Después, de las seropositivas, Se logró aislar *Salmonella* en 135 muestras fecales, por métodos bacteriológicos⁵.

Beloil et al, en 2004, publica un estudio de 101 granjas de Ploufragan Francia, donde se analizaron muestras de materia fecal y cecal; este proceso se llevó a cabo mediante métodos bacteriológicos clásicos y también se examinaron 30 muestras de materia fecal por el método ELISA indirecta. En este estudio se evaluó la relación de diferentes factores como: tipo de alimentación (seco o húmedo), la duración del transporte entre la granja y el matadero, condiciones de carga y descarga en la granja y en el matadero, entre otros. En las granjas analizadas, se encontró que el 37.6% (38/101) tenían muestras positivas para *Salmonella enterica*⁶.

Mejía W. en 2005, en su investigación de granjas porcinas de Cataluña describe los factores de virulencia de *Salmonella* spp. los cuales se asocian a diferentes antígenos; en la pared bacteriana antígenos somáticos (O), antígenos de cápsula (K, Vi) y los antígenos flagelares (H), de ello depende la resolución de la enfermedad⁷. Bustos et al. en 2005 dice que con respecto a su virulencia, *Salmonella* spp, afecta un sistema por su capacidad de invasión, toxicidad y resistencia a la muerte intracelular⁸.

Baumann et al. en su estudio realizado en 2006, menciona cómo se lleva a cabo la transmisión de *Salmonella*, describiendo que se puede dar en el medio ambiente por la excreta de heces, fómites, alimentos mal procesados e incluso por los trabajadores cuando no se tienen adecuadas prácticas de manejo frente al cuidado o sacrificio⁹. Sin embargo, la forma de transmisión más importante sigue siendo la de porcino a porcino.

También, en 2006, Mejía et al, publican un estudio realizado en Cataluña España, en el cual se realizaron estudios de muestras provenientes de cerdos de 141

granjas, por métodos bacteriológicos para presentar la susceptibilidad antimicrobiana; y por medio de ELISA para determinar seropositividad, los resultados indicaron que el 77% de las granjas, tenía al menos un animal seropositivo, en los cuales se detectaron 14 diferentes serotipos. Respecto a la susceptibilidad, más del 30% de las cepas eran resistentes a 4 antimicrobianos comúnmente usados para infecciones gastrointestinales. Los factores de asociación que se encontraron en este estudio fueron, tener ganado diferente a los cerdos, el tamaño de su hato, y antecedentes de salmonelosis, es decir animales portadores.¹⁰

Según Food Standards Agency (FSA) en el 2007, cuando el porcino contrae *Salmonella* spp, la resolución sintomática puede ser de muy corta duración no afectando el bienestar del animal. En lechones destetados los síntomas que se desarrollan están directamente relacionados con diarrea y deshidratación. Los problemas se dan cuando el agente sobrepasa niveles críticos, causando la muerte del animal y en el caso de las cerdas produce aborto¹¹.

Teniendo en cuenta que la transmisión de la salmonelosis también puede ser dada por fómites, Corrales et al. en el año 2008, desarrolló un estudio para aislar enterobacterias, entre ellas *Salmonella* spp. en guantes y manos de los trabajadores de una planta de sacrificio en Cundinamarca-Colombia. Primero se llevó a cabo la realización de encuestas a los empleados participantes del estudio, para evidenciar su técnicas de higiene al momento de trabajar; para el aislamiento se utilizaron técnicas de cultivo microbiológico y pruebas bioquímicas, donde se obtuvo un resultado de cero aislamientos de *Salmonella* spp, pero sí se aisló *Escherichia coli*¹².

Por otra parte Malbrán en el año 2009, escribió acerca de la clasificación comprendida por los estudios basados en la secuenciación de DNA, en el cual muestra la existencia de seis grupos, de los cuales sólo se reconocen dos especies del género *Salmonella*: *S. enterica* y *S. bongori*; éstas, a su vez se dividen en subespecies y en serovares¹³. Concretando, en caso de los porcinos, la salmonelosis está asociada a *S. Choleraesuis*, *S. Typhimurium* y *S. Typhisuis*.

Por ejemplo, en el 2009, Caffer et al, realizaron un estudio para detectar serovariedades de *Salmonella enterica* subespecie *enterica*, de 386 muestras de porcinos en Buenos Aires-Argentina, la seropositividad fue de 93 casos; la serotipificación mostró cinco serovares, los más prevalentes fueron S. Schwarzengrund, S. Heidelberg, teniendo en cuenta que éstos dependen de la ubicación geográfica¹⁴.

En relación con Dinamarca se estableció un estudio, el cual permitió comparar el aislamiento de *Salmonella spp* en carne de porcinos de tiendas minoristas y supermercados, mostrando un flujo mayor de contaminación en el año 2006 respecto al 2002; los datos de vigilancia del gobierno sólo se centran en las instalaciones de sacrificio, donde los resultados tienden a ser negativos, siendo estos una contradicción al estudio aportado por Aabo et al en el 2010, en el cual el foco mayor de contaminación son las tiendas minoristas. Se concluye que los dueños de estos establecimientos no cumplen a cabalidad con las normas de higiene, creando contaminación cruzada en cualquier momento del transporte, manipulación y/o venta del alimento¹⁵.

Wales et al en 2011, en su revisión, establecen la relación de la infección por *Salmonella spp*. en edades tempranas de los lechones y asocian el destete como un hecho importante en la infección debido a la pérdida de la inmunidad transmitida por la cerda, caracterizada por ser propia o endémica de los cerdos y en su mayoría asintomática, además incluye un serovar en granjas de cerdos que perduran durante todas las etapas de producción *S. Typhimurium*. este aporte es significativo debido a que se determina que un lechón infectado será portador y diseminador en adelante en la cadena de producción¹⁶.

Así también, en Antioquia-Colombia, Cuervo et al en el 2012, llevó a cabo un estudio en el que pretendía aislar *Salmonella spp*. en una planta de sacrificio de porcinos, esto por medio de diferentes métodos. Primero se llevó a cabo el aislamiento bacteriológico específico para enterobacterias, para esto, las muestras fueron sembradas en medios de cultivo, a estas colonias, se les realizó coloración de Gram para determinar si su morfología correspondía a bacilos Gram negativos, así mismo, las pruebas bioquímicas y de seroaglutinación ayudaron a determinar el género y la

especie. Sin embargo, como resultado de este análisis sí se obtuvo el aislamiento de varias enterobacterias pero en ninguna muestra se aisló *Salmonella spp*¹⁷.

En el año 2012, Henao et al, identifican las buenas prácticas de producción en granjas porcícolas de Tolima-Colombia. El departamento en los últimos quince años creció en dicho sector, dando así importancia al proceso de limpieza-desinfección, control de animales nuevos o reemplazados y control de roedores, aves e insectos. La aplicación de éstas confirma que se disminuye notoriamente la contaminación cruzada, se mejoran los planes de saneamiento, mitigando los diferentes factores de riesgo de vía de entrada por *Salmonella spp*¹⁸.

Arguello et al, en el 2012, realizaron un estudio para hallar la positividad de *salmonella*, en 896 muestras de heces de porcinos y de hisopados tomados de suelos en mataderos de España. Los métodos diagnósticos que se emplearon fueron primero bacteriológicos para aislar el patógeno y en las muestras en las que se logró esto, se les realizó el test de fluorescencia 4-methylumbelliferyl caprylate; los resultados arrojaron que 356 muestras fueron positivas para *Salmonella spp*. y después se realizó la clasificación de las serovariedades, siendo *S. Typhimurium* la más aislada¹⁹.

Así mismo, Marin et al en el 2013, realizaron un estudio hecho en Tolima-Colombia, el cual es apoyado por Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) y la Asociación Colombiana de Porcicultores (ACP), hoy llamada PorkColombia, en el cual se recolectaron muestras de 9 granjas porcícolas (n=420), se obtuvo que, *Salmonella spp* presenta mayor cantidad de casos de animales en gestación, con una seropositividad de 151 cerdas, ninguno de los animales presenta algún tipo de sintomatología, ni siquiera, con cualquier otra enfermedad entérica. Cabe aclarar que los animales seropositivos, no se relacionan directamente con la enfermedad, porque el animal puede tener algún anticuerpo anti-*Salmonella spp*²⁰.

Más adelante, Arcos et al en 2013, en Tolima-Colombia, realizan un estudio que contempla la salmonelosis porcina, pero enfocada en la carne del animal y en las plantas de beneficio. El total de muestras para este estudio fueron 507, obtenidas

de canales, ambientes y fómites, el aislamiento se llevó a cabo por medio de análisis microbiológico y su identificación por medio de pruebas bioquímicas y serológicas (Poli A + Vi). La positividad se presentó en 25 muestras, es decir 4,3%; con estos resultados se determinó que *Salmonella spp.* en fases de posproducción (beneficio y comercialización) se puede presentar por contaminación cruzada²¹.

Por otra parte Caranguay et al. en el 2014, en el departamento de Nariño escribe un estudio en el que se recolectaron 113 muestras de 33 establecimientos comercializadores de carne de los diferentes municipios, se llevó a cabo un estudio respaldado en el Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológica de alimentos para consumo humano, del Invima, confirmando que *Salmonella spp.* se puede encontrar en diferentes fómites como lo son: los guantes de carnicería, bandejas, mesa, vehículos de transporte de trabajo, siendo éstos de los más importantes, como resultado, se afirma que los establecimientos incumplen las medidas sanitarias, puesto que en todas las superficies examinadas, se logró aislar el patógeno, siendo los guantes de carnicería los que tuvieron mayor positividad (22%) . Al entrar en contacto la carne con los diferentes objetos, se genera un alto riesgo de que el consumidor se infecte, generando una ETA²².

En 2014 González, menciona datos importantes de los inicios de la salmonelosis, empieza hablando de Marthedal que en 1960 describe que *Salmonella* fue realmente aislado y cultivado por primera vez en 1884 por un alumno de Robert Koch, microbiólogo alemán quien descubrió el bacilo de la tuberculosis en 1882. Así mismo, los doctores Theobald Smith (1859 - 1934) y Daniel Elmer Salmon (1850 - 1914) fueron los primeros en describir la bacteria *salmonella spp.* en el año 1885 desde una cepa proveniente de un cerdo con peste porcina clásica, a ésta cepa le denominaron *hog-cholera bacilli*, y actualmente se conoce como *Salmonella choleraesuis*; Sin embargo, años después se descubrió el virus que realmente causa la peste porcina clásica, y por esto, *Salmonella* quedó como agente secundario a esta peste²³.

A su vez, González, en el mismo estudio, menciona otros doctores que aportaron algo para determinar las características generales y síntomas que ocasiona dicha bacteria. En primer lugar, se encuentra Carl Joseph Eberth (1835 - 1926)

bacteriólogo y patólogo nacido en Alemania. En 1880, observó la bacteria *Salmonella spp.* en muestras de bazo y de ganglios linfáticos mesentéricos de pacientes que fallecieron por tener el bacilo (*Salmonella typhosa*) causante de la fiebre tifoidea, y en su honor fue llamada *Eberthella typhosa*. También, realizó estudios en 1829, donde analizó 23 casos de fiebre tifoidea y en 12 de estos, encontró el bacilo con las mismas características de *Salmonella typhosa*²³.

Zabaleta, en su trabajo de grado en el 2014, evalúa la susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella spp.*, en 1202 muestras de plantas de beneficio, desposte y puntos de venta de carne de porcino de los departamentos Valle del Cauca, Antioquia y Eje Cafetero, las muestras fueron examinadas por el método horizontal de Ausencia/Presencia, el cual incluye un pre enriquecimiento con caldo BHI, un enriquecimiento en caldo Tetrionato de selenito a 35°C y Rappaport a 42°C, después se realizan aislamientos en medios selectivos XLD, Sulfito-Bismuto y Hecktoen entérico y por último las colonias con morfología característica de *Salmonella spp.*, se aislaron en medio cromógeno Salmonella Plus para su confirmación. En cuanto a la susceptibilidad microbiana, se llevó a cabo por medio de la técnica de microdilución en caldo con el sistema MicroScan, con paneles para Gram negativos. Como resultados, se obtuvieron 70 aislamientos positivos para *Salmonella spp.*, los serotipos aislados fueron: *S. Typhimurium* 70%, *S. Javiana* 9% y *S. Derby* 6%. En cuanto a la resistencia antimicrobiana, se encontró que un 14,1% presenta resistencia a trimetoprima/sulfametoxazol, un 9,4% a cefotaxima y un 6,2% a ampicilina²⁴.

En 2015 Pulecio et al, publican un artículo sobre la susceptibilidad antimicrobiana de 333 aislamientos de *Salmonella entérica* en Colombia, obtenidos de heces en camión, heces en corral, nódulos linfáticos mesentéricos y contenido cecal. El 99,6% de los aislamientos mostraron resistencia a antimicrobianos, donde 93,1 % mostraron resistencia frente a tetraciclina, seguido por tilmicosina con 73,8 %, ceftiofur 41,4 %, entre otros. Con estos resultados, se pudo concluir que se deben mejorar las medidas de prevención y control, de la producción primaria hasta la venta, tratando de impedir la resistencia antimicrobiana²⁵.

Llegando a la actualidad, de enero a abril de 2018, Ayala et al, realizaron un estudio para hallar *Salmonella spp.* en ganglios mesentéricos de 457 porcinos en plantas de beneficio de 13 departamentos de Colombia, el estudio se llevó a cabo gracias al Sistema Molecular MDS y luego se hizo la confirmación por Maldi-TOF MS; también se determinó la susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos y el desarrollo del análisis estadístico se realizó en Whonet 2016. La positividad de *Salmonella spp.* en ganglios mesentéricos se presentó en 129 muestras es decir el 28.2% del total, siendo la región del Huila la que tuvo mayor cantidad de muestras positivas²⁶.

Se identifica un déficit de estudios frente a ésta enfermedad y más en departamentos en los cuales su eje económico está la porcicultura como una fuerte fuente de ingresos.

2. MARCO REFERENCIAL

2.1 Características generales de *Salmonella spp.*

Es un bacilo Gram negativo cuyo diámetro oscila entre 0,3 a 1 μm x 1,0 a 6,0 μm , su metabolismo respiratorio es facultativo el cual permite su crecimiento en ambientes con o sin oxígeno, sin que éste sea tóxico para su desarrollo, la temperatura de supervivencia oscila desde los 7° hasta los 45° centígrados, se inactiva después de los 60° centígrados y por debajo de un pH de 5. Fermenta la glucosa en el ciclo de Embden Meyerhof para la obtención de energía, no fermentan lactosa ni sacarosa. Tiene la capacidad de moverse y adherirse gracias a sus flagelos peritricos. La bacteria no produce esporas⁷.

Figura 1: *Salmonella spp.* en tercera dimensión.



Tomado de: periódico digital 102 nueve balance informativo 2019 ²⁷

Gracias a las características descritas anteriormente *Salmonella spp.* se puede enriquecer y aislar en medios de cultivo, como: XLD, Hektoen entérico, MacConkey, entre otros. Las pruebas bioquímicas aportan un resultado presuntivo de los aislados realizados, entre las cuales se encuentran: catalasa positiva, donde la enzima catalasa reacciona con el peróxido de hidrógeno, formando agua y oxígeno,

fermentación de glucosa y producción de gas y de ácido sulfhídrico, oxidasa y urea negativa, quiere decir que la bacteria no posee la enzima citocromo-oxidasa y ureasa.

2.2 Taxonomía de *Salmonella* spp.

Este microorganismo hace parte del reino Bacteria, filo Proteobacteria, clase Gammaproteobacteria, orden Enterobacteriales, familia Enterobacteriaceae, género *Salmonella*, el cual se divide en dos especies *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. A su vez *Salmonella enterica* se conforma de 6 subespecies: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (I), *Salmonella enterica* subsp. *salamae* (II) *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* (IIIa), *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* (IIIb), *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* (IV), *Salmonella enterica* subsp. *indica* (VI). Además de esto, existen más de 2500 serotipos, los más representativos son los de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* afectado a los animales de sangre caliente y causando la mayoría de casos de salmonelosis en humanos^{28, 29}.

Según la clasificación de White-Kauffman-Le Minor, los serovares que pertenecen a otra subespecie se basan en la composición de los antígenos, conocidos como somáticos (O), flagelares (H) o de superficie Vi (K)³⁰.

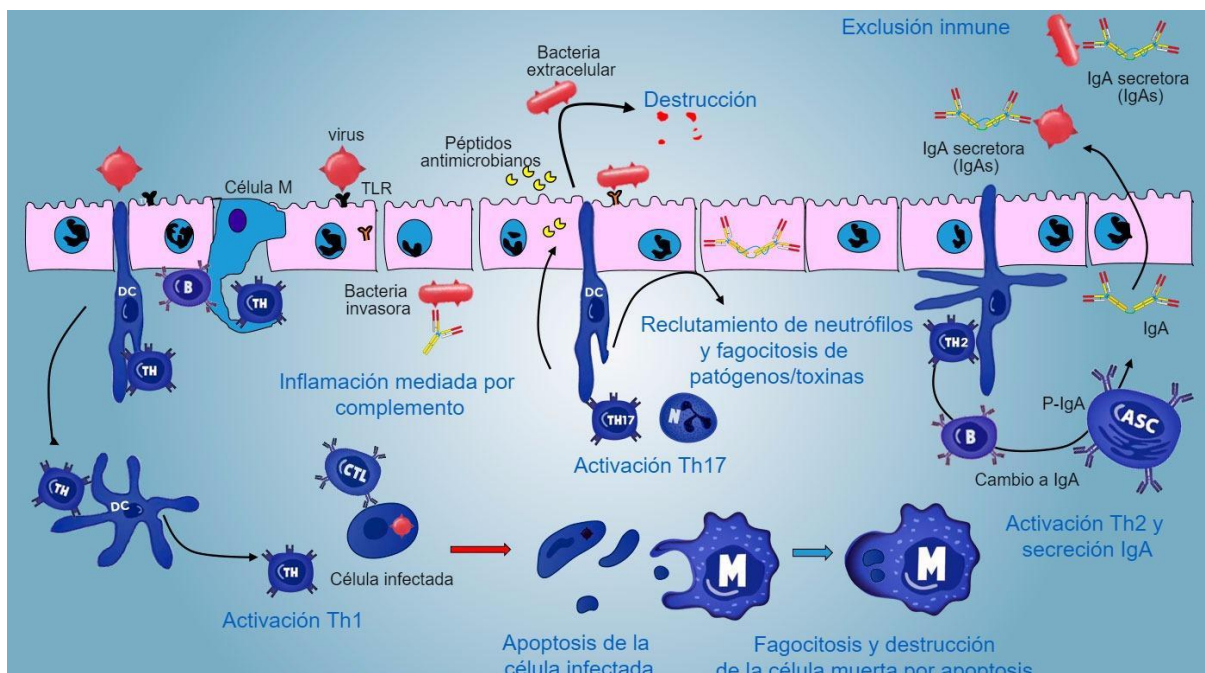
Los principales agentes etiológicos asociados a la salmonelosis porcina son *S. Choleraesuis* y *S. Typhimurium*, los cuales son identificados como zoonóticos³¹.

2.3 Patogénesis de *Salmonella* spp en el intestino del porcino.

Salmonella spp es un patógeno intracelular, tiene la capacidad de llegar a la células de Paneth en las criptas de la vellosidades del intestino, las células dendríticas (DC) emiten prolongaciones para poder pasar en medio de las células capturando a la bacteria por medio de una respuesta mediada de los receptores tipo toll (TLR) y los receptores de tipo oligomerización de unión a nucleótidos (NOD), induciendo a la producción de citoquinas proinflamatorias; las células M permiten el ingreso del epítipo, activando a las células presentadoras de antígeno (Ag) los linfocitos T helper 1 (Th1) los cuales viajaran hacia los ganglios linfáticos, allí, presentan los

antígenos (Ag) e inician toda la respuesta de inmunidad adquirida, para la producción de anticuerpos (Ac) por medio de estímulo de transformación que reciben los LB. La inmunidad adquirida interviene cuando la innata no logra controlar el ingreso de *Salmonella spp*, además cuando ya la bacteria sobrepasa su dosis infectiva de $10^{6.5}$ inicia su fase de infección, está también dependerá de los diferentes factores de virulencia de la misma³².

Figura 2: Inmunidad del tracto gastrointestinal del porcino frente a *Salmonella spp*.



Tomado de: Revista virtual 3tres3.com³².

2.4 Factores de virulencia de *Salmonella spp*.

Salmonella spp se caracteriza por tener diferentes factores de virulencia, uno de los más reconocidos son los mecanismos de adhesión y mecanismo de entrada a la célula denominado sistema de secreción tipo III (SST3), llamados también nanojeringas o inyectosomas; estructura por la cual se hace un intercambio de componentes del citosol bacteriano a la célula hospedadora, afectando el factor de transcripción nuclear, en pocas palabras el metabolismo celular, manipulando las vías de señalización celular¹.

El SST3 está compuesto por dos anillos proteicos que van en cada una de las membranas bacterianas (interna y externa) ensamblando una aguja proteica hueca.

El sistema empieza a actuar cuando la proteína de invasión (InLB) encuentra un receptor tirosin quinasa (receptor Met) que por medio de una guanosin trifosfatasa (GTPasa) Rac, WAVE y el complejo Arp2 / 3 inicia un proceso de nucleación y polimerización de la actina; la elongación de la actina crea unos microfilamentos los cuales ejercen fuerza motriz para la extensión de la membrana. Así mismo, la fosfoproteína estimulada por vasodilatadores (VASP) ubicada en los extremos de los filamentos contribuyen con la regulación del citoesqueleto de la actina en conjunto con Cofilina (proteína de unión a actina) que aumenta la despolimerización de la actina para dejar nuevos extremos libres iniciando de nuevo la polimerización, esto es regulado por la cinasa LIM. Cuando ya existe suficiente cofilina acumulada se desprende el filamento¹.

Así mismo todo este sistema está codificado por una isla de patogenicidad cromosómica conocida como SPI-1, importante porque confiere facultad de virulencia (polimerización de filamentos de actina). La SPI-1 está conformada de varias proteínas efectoras las cuales promueven rearrreglos en el citoplasma, entre las cinco más significativas encontramos a SipA, SopE, SopE2, SopB y SptP³³.

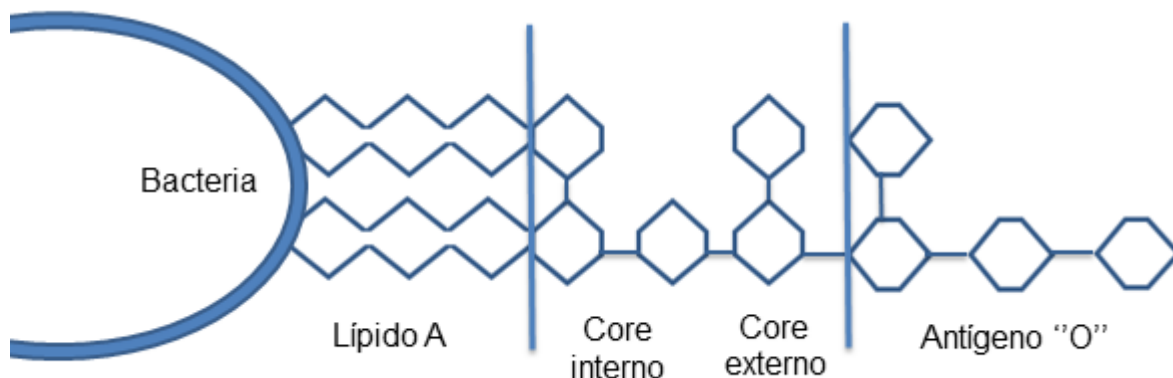
La SipA es una proteína involucrada en la unión a actina. SopE son importantes en la formación de ondulación de la superficie, como respuesta al contacto y también es estimuladora de Erk, JNK, p38 y MAP cinasa³⁴, las anteriores denominadas proteínas de tipo cinasa las cuales modifican sustratos mediante un proceso de fosforilación, al ser activadas se asocian con hipo e hiperosmolaridad celular, mediadores inflamatorios, estiramiento mecánico y choque de calor. Continuando, la denominada SopE2, activa a CDC42, que a su vez ésta activa a el complejo Arp2/3 para iniciar la polimerización de los filamentos de actina ya antes descrito. Por otro lado la SopB (proteína externa de la *Salmonella spp*) confiere una actividad de inositol fosfato fosfatasa que ocasiona una alta capacidad de señalización, gracias a la generación de fosfolípidos de inositol y inositol fosfato³³.

En cuanto al mecanismo de adhesión, encontramos el lipopolisacárido O (LPS) considerado como el antígeno de superficie de la membrana de todas las bacterias Gram negativas, siendo el mayor componente de ésta, ocupando $\frac{3}{4}$ partes. El LPS

está relacionado con la respuesta del sistema inmunitario del hospedero como agente un inmunógeno, también en la colonización y asentamiento de la infección³⁵

El LPS está constituido por tres regiones, lípido A, core y antígeno O. El lípido A es la región activa de la molécula, la cual está unida a ácidos grasos (ácido caproico, laúrico, mirístico, palmítico y esteárico) que se encuentran en la membrana externa de la bacteria. El core a su vez se divide en dos regiones, la interna compuesta por heptosas y la externa por hexosas. El antígeno O es un polímero el cual varía entre 1 a 8 residuos glicosídicos dependiendo de la especie de la bacteria (figura 2). Si sólo presenta las dos primeras regiones es denominado como lipooligosacárido (LOS)³⁶.

Figura 3: estructura del Lipopolisacárido "O", antígeno de superficie.



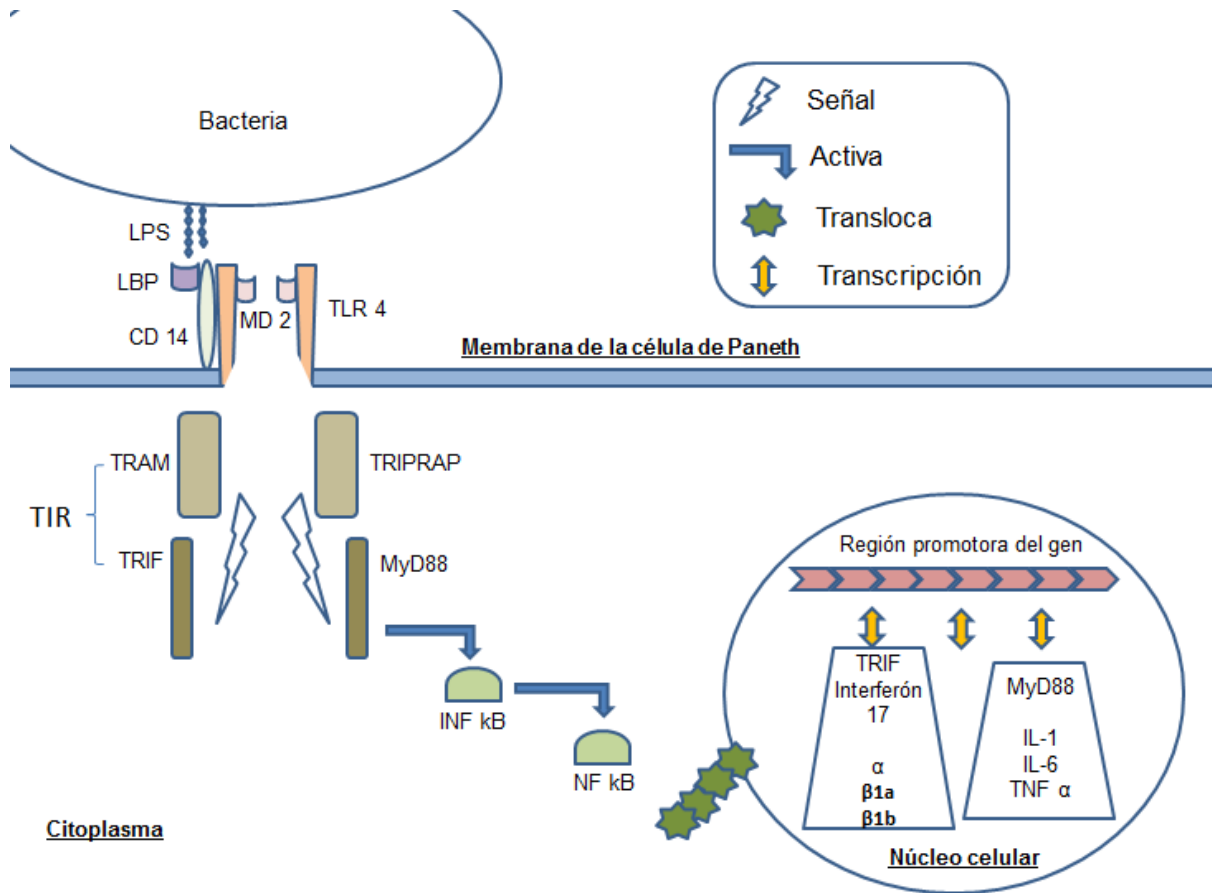
Realizado por: Autores

Con respecto al reconocimiento y la señalización, la proteína soluble MD2 y el TLR4 es el complejo de receptor que usa la bacteria para iniciar todo su ciclo de invasión celular, en compañía de la proteína CD14. La Proteína unidora de lipopolisacáridos (LBP) se encarga de capturar a los LPS asociándolos al receptor CD14 el cual podemos encontrar en células de Paneth, luego, se transfieren al complejo (TLR4/MD-2). Ya con el complejo LPS-TLR4/MD-2 formado se oligomeriza el TLR4 induciendo a una reacción con los Receptores Toll de Interleuquina 1 (TIR), induciendo la apertura de la membrana celular para el intercambio de proteínas; se conocen cinco proteínas del dominio TIR: TIRAP: proteína adaptadora del dominio

TIR. TRAM: proteína adaptadora relacionada con el TRIF. SARM: proteína inhibidora de la señal del TRIF. TRIF: proteína adaptadora asociada al dominio TIR inductora de interferón beta. MyD88: proteína de diferenciación mieloide³⁵.

La transducción es el proceso por el cual la célula convierte una señal o estímulo exterior, induciendo al ADN exógeno hacia el núcleo celular; en este caso tenemos dos vías, una dependiente de MyD88 y otra de TRIF. Cuando la señal llega a las vías dependientes MyD88 y/o TRIF, se activan quinasas del inhibidor del factor kB (NF-kB) separando al factor de transcripción nuclear (NF-kB), éste se activa y se trasloca al núcleo en donde se va a unir a la región promotora de genes de la respuesta inflamatoria para finalmente hacer la transcripción de: si toma la vía dependiente de MyD88 transcribe citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-6 y TNF α), en cambio, si toma la vía dependiente de TRIF transcribe interferones tipo I (α , β 1a, y β 1b)³⁵.

Figura 4: Reconocimiento y señalización de *Salmonella spp.*

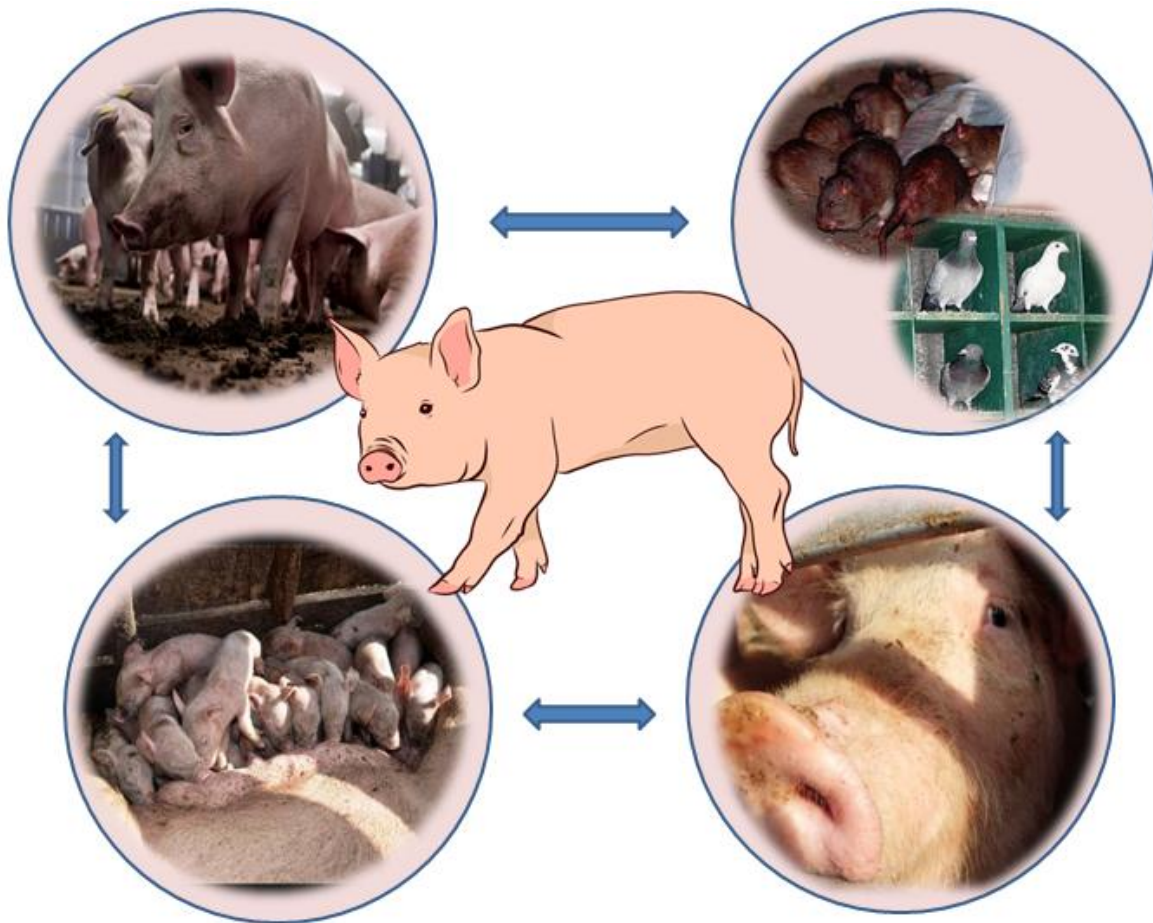


Realizado por: Autores

2.5 Transmisión de la salmonelosis en porcinos

La transmisión de *Salmonella spp* en el hato, inicia en la mayoría de los casos con un animal portador, se han documentado diferentes vías: vía fecal-oral, mucosas, iatrogénica, vertical, e inhalación. Se clasifica entre la forma directa y la indirecta, la directa a través del contacto con aerosoles, heces o animales infectados. La indirecta a través de alimentos, suelo, fómites vectores, agua, entre otros; más relacionados al medio en donde habita el animal²³, ya que éste microorganismo tiene una alta capacidad de supervivencia.

Figura 5: Transmisión de *Salmonella spp.*



Realizado por: Autores

2.6 Factores de riesgo en la transmisión de salmonelosis porcina

Los diferentes factores de riesgo que pueden estar implicados en la transmisión y diseminación de la salmonelosis son: los sistemas de alimentación, la sanidad y medidas de bioseguridad, las características de las granjas y los sistemas de manejo.

Uno de los sistemas de alimentación es el alimento granulado o en harina, el cual supone que incrementa la presencia de *Salmonella spp.*, dado que cambia la microbiota intestinal, generando un aumento de la resistencia de la supervivencia

del microorganismo, por el cambio de dieta. El alimento húmedo, además de mejorar la tasa de crecimiento en los cerdos de engorde, puede causar el mismo riesgo que los alimentos granulados y en harina⁷.

Los promotores de crecimiento con antibióticos, dañan la microbiota endógena del intestino, permitiendo una colonización rápida de las células blanco, ya que se crea una resistencia antimicrobiana no necesaria para el animal. Así mismo, el poco o nulo control de los roedores y aves que actúan como reservorio transportando *Salmonella spp* en sus heces; contaminan el alimento⁷.

Por otra parte los porcinos de reemplazo son un punto crítico para la diseminación de salmonelosis, porque, en el momento del transporte se crea un estrés en el cerdo, el cual hace que se excrete el agente por medio de las heces, contaminando a los otros animales. En cuanto a las cerdas portadoras, éstas pueden contaminar a los reemplazos si éstos presentan una inmunidad específica menor o si además no se llevó una adecuada cuarentena previamente. Por otra parte, en la transmisión vertical se presenta que, los lechones pueden ser infectados desde la etapa de lactancia por sus madres, ya que, su sistema inmune no está desarrollado totalmente²³.

Por otro lado, en sanidad y medidas de bioseguridad, la secreción de la bacteria aumenta cuando se generan brotes de diarrea en el hato. Entre los factores de riesgo con respecto a las características de producción y manejo, se dice que entre más pequeño sea el hato habrá mayor presencia del microorganismo, dado que, las prácticas de manejo son más deficientes y menos controladas, comparadas con grandes explotaciones, ya que los pequeños porcicultores no cuentan con sistemas de calidad. Esto también depende de factores individuales como: corral (forma, división, tamaño) y factores globales como: todo lo que respecta con la granja (desinfección, manejo de residuos, manejo de fuentes hídricas) ²³.

2.7 Manifestaciones clínicas de salmonelosis en porcinos

La infección por *Salmonella spp* en la mayoría de los casos es asintomática. La forma clínica, es decir, la fase sintomática, se desarrolla cuando el animal es sometido a un estrés, producido por factores como: hacinamiento, transporte, destete, parto, cambios en la alimentación, enfermedad viral o parasitaria, entre otros.

La fase sintomática se caracteriza de dos formas: septicémica y entérica. La forma septicémica, se da comúnmente en cerdos menores de 5 meses, llegando a ser letal; los síntomas pueden variar desde fiebre prominente, dificultad para respirar, cianosis (coloración azul) por una deficiente oxigenación de la sangre atribuida a problemas respiratorios y en algunos casos se encuentran hemorragias diseminadas por la naturaleza de la infección. Cuando el cerdo sale de la infección debido a su respuesta inmune eficaz, queda como portador, por lo menos durante el año siguiente, porque los antígenos duran aproximadamente éste tiempo⁷. Con respecto a la forma entérica, es frecuente en cerdos menores de 2 meses, el signo patognomónico es la diarrea y síntomas generales como letargo, pérdida del apetito, fiebre. Cabe resaltar que ésta forma también genera un animal portador³⁷. La infección no es característica sólo de los lechones, también afecta a animales adultos.

2.8 Métodos diagnósticos

Según la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE) se determinan diferentes técnicas microbiológicas, serológicas y moleculares para la detección de *Salmonella spp*, teniendo en cuenta la identificación del agente y/o la respuesta inmune del animal³⁸.

2.8.1 Técnicas microbiológicas

Para aislar el microorganismo de animales asintomáticos donde se presenta baja excreción de este mismo, se debe iniciar con la etapa de pre-enriquecimiento usando agua peptonada, siendo uno de los componentes principales la peptona de carne, permitiendo el crecimiento del microorganismo, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. Luego, se procede a un enriquecimiento selectivo, el cual se puede hacer en el caldo Rappaport Vassiliadis, ya que *Salmonella spp* tiene la capacidad de sobrevivir y multiplicarse en altas concentraciones de cloruro de manganeso, las cuales son aportadas por éste caldo, mientras que otras Enterobacterias no lo resisten. Otros caldos selectivos que se usan normalmente en la práctica son, Selenito Cistina, Müeller-Kauffmann Tetracionato, entre otros ³⁸.

El medio más usado en la práctica para aislar como tal el microorganismo es el XLD, dado que, *Salmonella spp.* tiene la capacidad de descarboxilar la lisina por medio de la enzima lisina descarboxilasa, la cual permite un cambio de pH neutro a ácido en el medio, dando un color fucsia por el indicador rojo fenol, también se evidencia la producción de ácido sulfhídrico (H₂S) por medio del tiosulfato de sodio³⁹. Entre otros medios de alta selectividad se encuentran: Sulfito de Bismuto que cuenta con verde brillante e indicador sulfito-bismuto, eliminando microbiota acompañante. Agar Salmonella-Shigella, Harlequine Salmonella, DIASALM el cual detecta cepas atípicas por medio de la confirmación con antisueros polivalentes anti-O y anti-H, también Agar Verde Brillante y agar Desoxicolato Citrato, entre otras³⁷.

La confirmación de colonias sospechosas se hace por medio de un set de pruebas bioquímicas, la fermentación de los azúcares se muestra en el Triple Sugar Iron (TSI), *Salmonella spp* es fermentador de glucosa por eso en el pico de flauta y gracias al indicador rojo fenol éste virará a color rojo, y en el fondo se verá amarillo por el no consumo de la lactosa y sacarosa (R (Rojo)/A (amarillo)). Para la demostración de la descarboxilación de la lisina se usa el Lisina Iron Agar (LIA), *Salmonella spp* posee la enzima descarboxilasa, y se evidencia gracias al indicador púrpura de bromoquesol, (K (alcano)/K (alcalino)) ⁴⁰. Para una aproximación del género bacteriano se procede a realizar el IMViC, el cual se compone de cuatro

pruebas, seguido del resultado del microorganismo en estudio: Indol negativo, Rojo de metilo positivo, Voges-Proskauer negativo y Citrato positivo⁴¹.

2.8.2 Técnicas serológicas

En cuanto a la detección de la respuesta inmune, las técnicas más adecuadas son la prueba de aglutinación sérica (SAT) y enzimoimmunoanálisis (ELISA), las cuales detectan anticuerpos contra *Salmonella spp.* Éstas son las más recomendadas para el estudio en población, porque se pueden manejar muchas muestras manteniendo la sensibilidad y detectabilidad, dado que, el uso de anticuerpos posibilita la amplificación de la señal, además, porque también mantiene una alta flexibilidad ya que un mismo anticuerpo secundario puede emplearse con diferentes anticuerpos primarios, trayendo buenos beneficios económicos. La muestra adecuada es suero ya que contiene los anticuerpos policlonales a detectar, usando mínimas cantidades de la ésta³⁸.

La prueba de aglutinación sérica (SAT) es un ensayo en tubo o en placa de vidrio, en el cual se enfrenta la muestra a un antisuero, donde, si la reacción es positiva se verá una aglutinación por la presencia de los anticuerpos en la muestra, y si es negativa no se debe ver ningún tipo de aglutinación⁴².

El Test de ELISA indirecto es un ensayo heterogéneo no competitivo, en el cual los anticuerpos (Ac) presentes en la muestra, se unen a los antígenos (Ag) que se encuentran en fase sólida en la placa, la reacción se demuestra por el conjugado anti-inmunoglobulina-enzima o proteína-anticuerpo-enzima. La cantidad de enzima enlazada es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos en el suero, ésta se mide por la degradación del sustrato. Se debe tener claro que la concentración de anticuerpos es clave en estudios *in-vivo*, porque la presencia de inmunoglobulinas inespecíficas o anticuerpos de baja afinidad, ocasionan titulaciones bajas o falsos negativos. Este ensayo es la mejor alternativa a la hora de detectar anticuerpos de clase IgG o IgA⁴².

2.8.3 Técnica molecular

La prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es clave en la identificación taxonómica del agente, puesto que, ésta prueba se basa en la replicación celular en la que actúan varias proteínas para sintetizar dos nuevas hebras de ADN a partir de otra que funciona como molde logrando la ampliación del material genético obteniendo millones de copias de la región de interés a partir de pocas copias de ADN. Ésta prueba puede utilizarse en algunas situaciones, pero el costo y otros factores limitan mucho su aplicación⁴².

2.9 Tratamiento en porcinos

Con respecto al tratamiento en casos de salmonelosis porcina, se debe tener en cuenta que éste se administra a los cerdos con presentación clínica de la enfermedad y a los cerdos en granjas positivas, como medida de control.

En los cerdos con presentación clínica de la enfermedad, se debe administrar antibiótico, teniendo en cuenta el aislamiento y el antibiograma de la bacteria. Esta bacteria, al ser intracelular facultativa, va a estar en diferentes órganos, y no solo en el sistema digestivo, por esto, se debe administrar antibiótico por vía parenteral y oral, para que llegue a todos los sitios donde se pueda encontrar *Salmonella spp*⁴³. Los antibióticos que se usan, son ampicilina (6-7 mg/kg de peso) y cloranfenicol (13,6-42,9 ng/kg), sobre todo en infecciones por *SalmonellaTyphimurium*⁴⁴.

En los caso de tratamiento en granjas positivas como medida de control, se debe suministrar antibiótico a los cerdos que estén en condiciones de estrés (destetes y parideras), esto con el fin de tratar posibles animales asintomáticos. A su vez, se pueden usar otras técnicas de tratamiento complementario al antibiótico, como la acidificación de concentrado, suplementos y agua⁴.

2.10 Vacunas

Según el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) hasta mayo del 2017 en Colombia se encuentra vigente una vacuna preventiva NEUMOBAC FL contra *Salmonella enteritidis* var essen, dublín y newport, la cual no se debe aplicar en animales sintomáticos.⁴⁵ Ésta, está compuesta por bacterina de *Escherichia coli*, *Salmonella dublin*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella newport* y *Pasteurella multocida*, como adyuvantes: hidróxido de aluminio, para aumentar su inmunogenicidad y eficacia, y polímeros de baja densidad para aumentar la resistencia térmica y química⁴⁶.

La aplicación de la vacuna se hace vía intramuscular o subcutánea, ya que estas técnicas de inyección, ayudan a que los componentes de la vacuna se liberen de forma prolongada. La dosificación en hembras gestantes es a partir de las 5 semanas preparto, dado que, la cerda tiene que acondicionarse para la producción de anticuerpos, para que, en el momento del parto, el lechón adquiera la inmunidad adaptativa neonatal, se aplican 2 mL en un intervalo de 21 días. Por otra parte, en lechones en donde la incidencia de la enfermedad es alta, se aplican 2 mL a partir de los 30 a 90 días de edad y en zonas de incidencia baja, 2 mL a partir de los 3 meses de edad⁴⁶.

Los animales se deben revacunar dependiendo del tipo de vacuna, porque la inmunidad varía en función del producto, de las pautas de vacunación y del animal vacunado. Se revacuna cada seis meses cuando se usa una vacuna inactivada (compuesta por proteínas o fragmentos de la bacteria) y cada año cuando se usan vacunas vivas (compuesta por la bacteria debilitada), el tiempo de la revacunación se calcula dependiendo de la duración de los componentes de los cuales está hecha cada vacuna. Éstas también tienen reacciones adversas posteriores a su aplicación, por lo tanto, se sugiere suministrar epinefrina antes de la aplicación de la vacuna³⁸.

2.11 Prevención y control

El control en las granjas inicia con las buenas prácticas de higiene, mediante la utilización de medidas de barrera para el ingreso a las zonas de producción de cerdos, junto con una limpieza adecuada con desinfectantes capaces de eliminar a la bacteria, como lo son, aquellos compuestos de amonio cuaternario e hipoclorito de sodio, que tienen una acción biocida, que genera una fijación a la superficie de los materiales, ejerciendo su actividad desinfectante, inhibiendo las funciones de la pared celular y de la membrana citoplasmática y/o por interacción física con la membrana celular. Una limpieza, dosis o tiempo de contacto inadecuados pueden afectar su eficacia⁴⁷.

En cuanto a las instalaciones de la granja, se considera importante que los pisos estén completamente ranurados, de ésta forma las heces caen en la fosa y se presenta menor riesgo de contaminación (las fosas siempre deben estar en constante vaciado). Los corrales deben ser totalmente individuales con el fin de que no exista un contacto entre cerdos de diferentes corrales, disminuyendo así el estrés entre ellos mismos⁴⁷.

Al mismo tiempo, el sistema todo dentro, todo fuera, permite que el reemplazo de los animales se ejecute de un solo lote específico, porque, entre más diversidad de reemplazos mayor será el riesgo de contaminación en la granja, se debe tener en cuenta que es mejor no mezclar los animales obtenidos con los animales ya existentes, dado que, sus sistemas inmunes no son potencialmente iguales. Adicionalmente impide que animales de distintas edades entren en contacto, por lo que irrumpe ciclos de infección de microorganismos al impedir que los animales mayores infecten a los acabados de entrar⁴⁷.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS), mencionan los requisitos de higiene personal y de comportamiento relacionados con la producción higiénica de alimentos, por medio de la comisión del Codex Alimentarius en su Código de

Prácticas Internacionales Recomendadas en Principios Generales de Higiene de los alimentos. Su objetivo principal es garantizar que los empleados que entran en contacto directo o indirecto con los alimentos no los contaminen⁵⁷.

2.12 Razas de porcinos en Colombia

Según El Manual de Producción Porcícola del Sena y la revista CONtexto ganadero, las razas de porcinos importadas en Colombia son: Large white, Yorkshire, Landrace, Chester white, Pietrain, Hampshire, Tamworth, Poland china, Berkshire, Duroc jersey. Entre las razas criollas están: Sampedreño, Congo santandereano, Casco de mula, Curí, Care palo, Chocoano, Zungo. Por último las razas comerciales: Pic, Camborough^{48, 49}.

2.13 *Salmonella spp.* como causante de enfermedad transmitida por alimentos

Una enfermedad transmitida por alimentos (ETA) es un conjunto de síntomas que se presentan por el consumo de alimentos o de agua contaminada, los cuales contienen patógenos y/o toxinas, que en cierta cantidad pueden afectar la salud de los consumidores.

Las ETA se pueden clasificar en: Intoxicaciones alimentarias: Éstas se producen al ingerir toxinas formadas en las plantas, animales o producidas por microorganismos. Y en las infecciones alimentarias: las cuales son producidas al ingerir alimentos y/o agua contaminada con diferentes microorganismos como: bacterias, virus, hongos y parásitos, los cuales tienen la capacidad de multiplicarse e invadir la pared intestinal y desde allí alcanzar otros sistemas⁵⁰. *Salmonella spp.* se puede transmitir a través de contaminación cruzada entre alimentos o la mala cocción de éstos (carne de cerdo, res o aves). El promedio del periodo de incubación es de 18 a 36 horas, contribuyendo a la contaminación factores como: suministro de alimentos de fuentes contaminadas, almacenamiento y refrigeración deficiente, falta de limpieza de los equipos, trabajadores mal capacitados en las buenas prácticas de higiene⁵¹.

Según Betancor et al. es importante resaltar que la salmonelosis es la ETA más habitual en todo el mundo, con reportes de incidencia de 1,3 billones de casos al año; cuando ésta pasa a un estado crónico (generalmente por *Salmonella enterica*) se pueden presentar enfermedades como: colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn, conduciendo así a la muerte en humanos, se registran tres millones de muertes al año, siendo ésta la responsable de la mayoría de casos⁵². Representando así, un riesgo para la salud humana y problemática de salud pública²³.

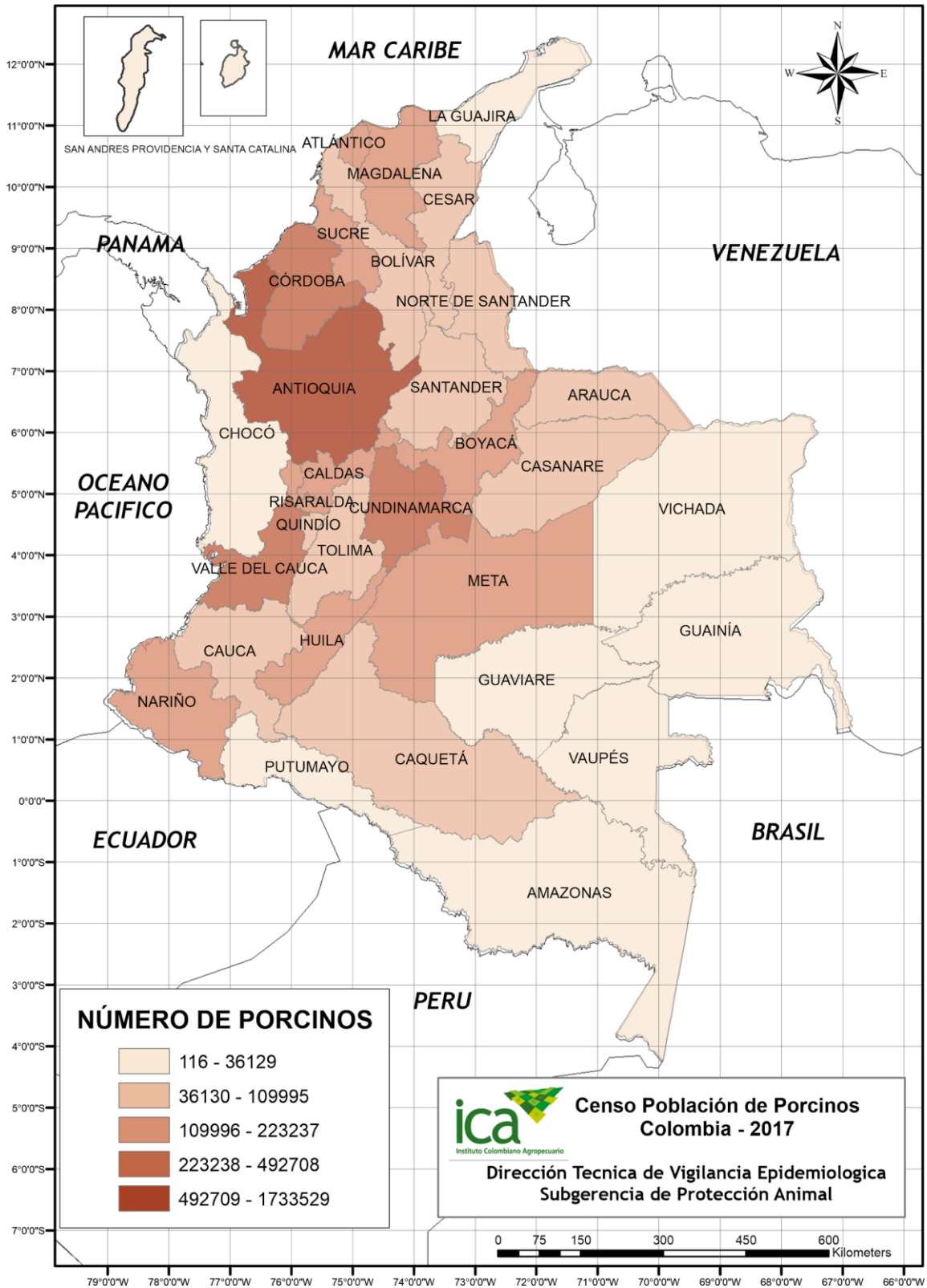
2.14 Porcicultura en Colombia

Para el año 2017, Colombia tenía 5'327.460 porcinos, los cuales se encontraron en 234.883 predios. El porcentaje de porcinos por departamentos (figura 6) fue: Antioquia (32,53%), Cundinamarca (9,24 %), Córdoba (6,90 %), Valle del Cauca (5,82%), Meta (4,19%) y Sucre y Magdalena con (4,00 %) en estos departamentos se concentra el 66,68% de la población nacional ⁵³.

Según la revista Dinero, hacia el año 2017, se evidenció una inversión de 4.2 billones en la comercialización de la carne, gracias al mayor consumo por persona, dado que anteriormente fue de 2.8 billones anuales. En otras palabras en el año 2010 el consumo de carne de cerdo por persona fue de 4.8 kilos y hacia el año 2017 fue de 9.3 kilos, traduciendo que, en los hogares colombianos la carne de cerdo pasó de 38% a 67% en el consumo, siendo así un protagonista principal en la alimentación, gracias a su baja en el costo en comparación de años anteriores⁵⁴.

En cuanto a las pérdidas estimadas por mortalidad por *Salmonella spp* en el año 2010, se dice que cada animal deja una pérdida de 287.100 pesos, sin incluir las ganancias que éste a futuro dejaría⁵⁵.

Figura 6: Mapa distribución población porcina en Colombia, año 2017.



Tomado de: Instituto Colombiano Agropecuario ICA Censo Pecuario Nacional- 2017⁵³

2.15 Manifestaciones clínicas de salmonelosis en humanos

La salmonelosis en humanos suele afectar a niños, ancianos y mujeres embarazadas; personas inmunocomprometidos. Se caracteriza de dos formas: tifoidea y no tifoidea. Las manifestaciones clínicas frente a la salmonelosis tifoidea, conocida comúnmente como fiebre tifoidea, se da de 2 a 3 semanas post-infección, generando fiebre, cefalea, tos, escalofríos y en algunas ocasiones síntomas gastrointestinales; también de un 5 a 12% de los casos manifestaciones neurológicas y en un 15 al 75% hepatoesplenomegalia⁵⁶. La no tifoidea presenta principalmente síntomas gastrointestinales de 12 a 72 horas post-infección, como: diarrea, dolor abdominal, fiebre, náuseas y vómito³⁷.

3. Objetivos

3.1 Objetivos General

Determinar la seropositividad de *Salmonella* spp. en muestras de porcinos de 11 departamentos de Colombia durante el año 2017.

3.2 Objetivos específicos

- Evaluar mediante inmunoensayo enzimático indirecto la seropositividad de *Salmonella* spp. en porcinos.
- Establecer por departamentos la seropositividad de *Salmonella* spp. en los sueros de porcinos incluidos en el estudio.
- Identificar los posibles factores asociados a la presencia de *Salmonella* spp. en porcinos de Colombia.

4. DISEÑO METODOLÓGICO:

4.1 Tipo de estudio: Descriptivo de corte

4.1.1 Universo: Animales de Colombia.

4.1.2 Población: 1'920.944 porcinos de los departamentos Antioquia, Boyacá, Caldas, Cauca, Cundinamarca, Huila, Meta, Nariño, Quindío, Risaralda, y Valle del Cauca de Colombia

4.1.3 Muestra: 1460 Sueros tomados de porcinos de los departamentos Antioquia, Boyacá, Caldas, Cauca, Cundinamarca, Huila, Meta, Nariño, Quindío, Risaralda, y Valle del Cauca de Colombia, almacenados en el laboratorio ZOOLAB.

4.2. Variables

4.2.1 Variables independientes: Raza, sexo, departamento, municipio, clima.

4.2.2 Variable dependiente: Presencia de *Salmonella spp.*

4.3 Procedimiento y técnica:

Para poder realizar la prueba, se obtuvieron 1.460 sueros de porcinos del banco de sueros del laboratorio Zoolab, éstos llegaron de diferentes partes de Colombia. Todos los departamentos no muestran una misma distribución en cuanto a la cantidad de muestras.

4.3.1 Técnica:

Se desarrolló la técnica de ELISA indirecta *Salmonella* Ab porcino, basado en un enzimoimmunoanálisis para la detección de anticuerpos contra el LPS O 1, 4, 5, 6, 7 y 12, los pocillos están recubiertos con el LPS purificado de *Salmonella typhimurium* y *Salmonella choleraesuis* y el conjugado es antisuero de conejo acoplado a peroxidasa de rábano picante.

El procedimiento de la ELISA indirecta se puede ver detalladamente en el inserto del PrioCHECK™ Porcine *Salmonella* Kit (ANEXO 1)

4.3.2 Análisis estadístico:

El análisis epidemiológico se basó en la seropositividad de *Salmonella* spp., en 1460 sueros de porcinos, éstos llegaron al laboratorio ZooLab durante el año 2017 y para la descripción y asociación de datos se usaron dos programas, SPSS y EPI INFO.

El presente estudio inició con: depuración, codificación de base de datos y creación de tabla de variables:

1. Se unificaron los términos de las diferentes variables.
2. Se crearon las variables dicotómicas para variable sexo: hembra o macho.
3. Se crearon las variables policotómicas para variable raza: Camborough, Landrace, Pic, Pientrain, Topigs, Traxx.
4. Se codificaron los datos perdidos como: 9999

La descripción de las variables se realizó mediante un análisis univariado; para las variables cualitativas se obtuvo frecuencia y frecuencia relativa. En cuanto a las variables cuantitativas se calcularon medidas de tendencia central y dispersión. Posteriormente se realizaron análisis bivariados con las pruebas estadísticas chi cuadrado y U de Mann-Whitney con los posibles factores de asociación obtenidos de la base de datos con la información de los porcinos del estudio. La variable dependiente fue la presencia de anticuerpos contra *Salmonella* spp. obtenida por medio de ELISA indirecta. Para las variables objeto de estudio se calculó razón de seropositividad con IC 95% y adicionalmente se realizó un mapa de casos agrupados.

5. RESULTADOS

ANÁLISIS DESCRIPTIVO:

En cuanto a la distribución geográfica de los sueros de porcinos en los departamentos del estudio en Colombia, se observa que Valle del Cauca, Risaralda y Caldas son los departamentos con más del 70% de las muestras analizadas; así mismo, Valle del Cauca lidera la lista con un 25,9% de las muestras en municipios como Zarzal y Yumbo. Pereira municipio de Risaralda cuenta con un 7,5% del total de las muestras.

Tabla 1: Total de muestras de porcinos por departamento.

Departamento		
Característica	n: 1460	Porcentaje %
Valle del Cauca	871	59,6
Risaralda	135	9,2
Caldas	125	8,6
Cauca	112	7,7
Cundinamarca	86	5,9
Antioquia	61	4,2
Quindío	29	2,0
Boyacá	18	1,2
Huila	16	1,1
Nariño	5	0,3
Meta	1	0,1
No informa	1	0,1

Característica sociodemográfica: Departamento. Muestra (n) siendo el total de las muestras de porcinos y porcentaje de las muestras de porcinos (porcentaje %) por cada departamento incluido en el estudio.

Tabla 2: Total de muestras de porcinos por municipio.

Municipio		
Característica	n: 1460	Porcentaje %
Zarzal	284	19,5
Pereira	109	7,5
Yumbo	93	6,4
Caloto	87	6,0
Guacarí	74	5,1
Cartago	58	4,0
La Unión	57	3,9
Ginebra	56	3,8
Miranda	49	3,4
San Isidro	40	2,7
Pacho	38	2,6
No informa	37	2,5
Villa María	31	2,1
Circasia	29	2,0
Don Matías	29	2,0
La Cumbre	27	1,8
Chinchiná	26	1,8
Belalcázar	25	1,7
Neira	23	1,6
Ansermanuevo	22	1,5
Arbeláez	21	1,4
Supia	20	1,4
Santo Domingo	18	1,2
Neiva	16	1,1
Alcalá	15	1,0

Candelaria	15	1,0
Roldanillo	15	1,0
Yotoco	15	1,0
Belén de Umbría	14	1,0
Puerto Tejada	14	1,0
Santa Rosa de Osos	13	0,9
Jamundí	12	0,8
Marsella	12	0,8
Mosquera	12	0,8
Duitama	10	0,7
Sasaima	10	0,7
La Victoria	9	0,6
Tibasosa	8	0,5
Pasto	5	0,3
Santander de Quilichao	5	0,3
Guaduas	3	0,2
El retiro	1	0,1
Fusagasugá	1	0,1
Nocaima	1	0,1
Puerto López	1	0,1

Característica sociodemográfica: Municipio. Muestra (n) siendo el total de las muestras de porcinos y porcentaje de las muestras de porcinos (porcentaje %) por cada municipio incluido en el estudio.

Las hembras representan un predominio en la población, con más del 85% de muestras, como se muestra en la figura 7. Entendiendo así que por cada macho se recolectaron 9 muestras de hembras.

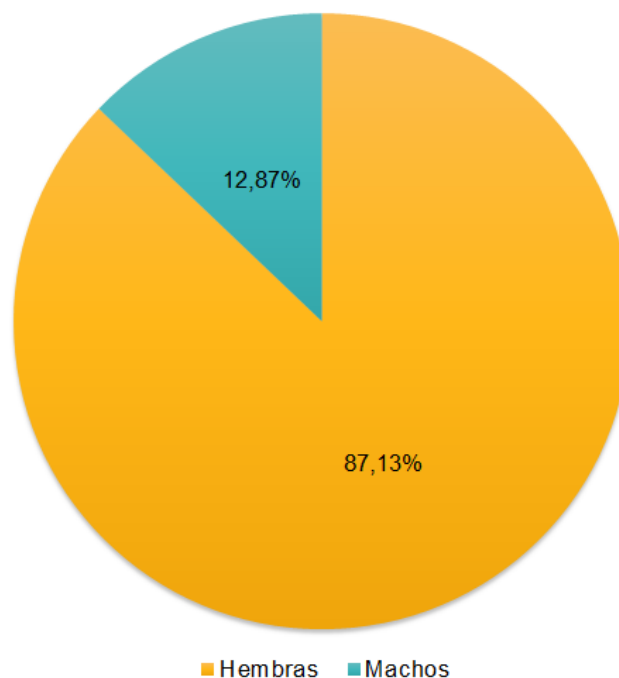
Tabla 3: Total de muestras de porcinos según el sexo.

Sexo		
Característica	n=1460	Porcentaje %
Hembra	1124	87,1
Macho	166	12,9

170 (11,6%) Datos perdidos

Característica sociodemográfica: Sexo. Muestra (n) total en muestras de porcinos y porcentaje de las muestras de porcinos (porcentaje %) por hembras y machos incluidos en el estudio.

Figura 7: Porcentaje de muestras de porcinos según el sexo.



Porcentaje de muestras de porcinos según el sexo, hembras (amarillo) y machos (azul) incluidos en el estudio.

Se identificaron seis razas de porcinos en las muestras analizadas de los diferentes departamentos, la de mayor frecuencia fue: Pic que correspondió al 79% de los porcinos analizados, seguido de Topigs con alrededor del 8% de la población y la

raza con menor predominio fue Landrace con 0,5% de porcinos incluidos en el estudio (tabla 4, figura 8).

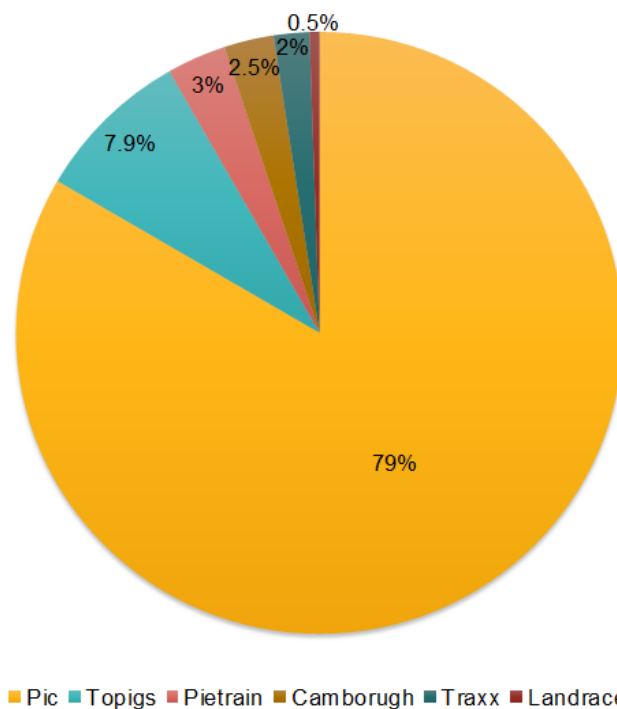
Tabla 4: Total de muestras de porcinos según la raza.

Raza		
Característica	n=1460	Porcentaje %
Pic	867	79,0
Topigs	87	7,9
Pietrain	33	3,0
Camborough	27	2,5
Traxx	20	1,8
Landrace	5	0,5

362 (24,8%) Datos perdidos.

Muestra (n) total de muestras de porcinos, porcentaje de las muestras (porcentaje %) según la raza de los porcinos incluidos en el estudio.

Figura 8: Porcentaje de muestras de porcinos según la raza.



Porcentaje de muestras según la raza de porcinos incluidos en el estudio.

Seropositividad de *Salmonella* spp. en Colombia, año 2017:

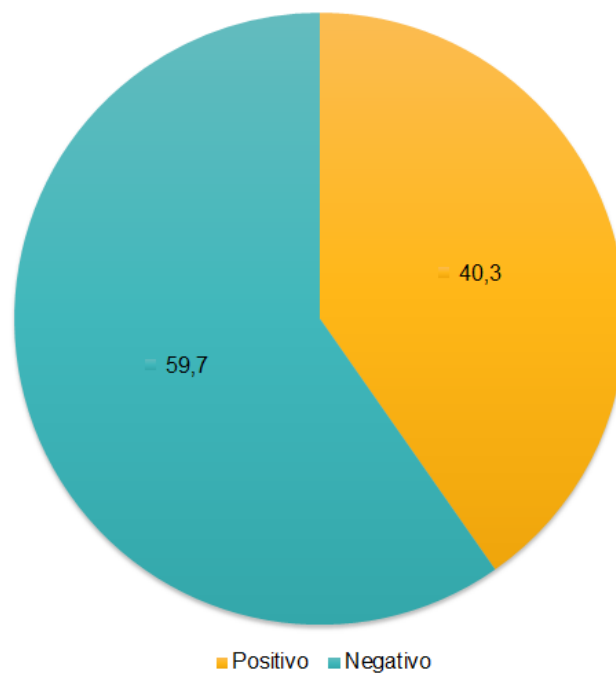
La seropositividad de *Salmonella* spp. se estableció por medio de la técnica ELISA indirecta, arrojando así un 40,3% de seropositividad en el total de las muestras de porcinos analizadas, tomado como seropositivo un título >40 (tabla 5, figura 9).

Tabla 5: Seropositividad de *Salmonella* spp. en el total de las muestras de porcinos, en Colombia durante el año 2017.

Seropositividad de <i>Salmonella</i> spp.		
Características	n=1460	Porcentaje %
Negativo	872	59,7
Positivo	588	40,3

Muestra (n) total de las muestras de porcinos y porcentaje de seropositividad de las muestras de porcinos (porcentaje %) incluido en el estudio.

Figura 9: Seropositividad de *Salmonella* spp. en el total de las muestras de porcinos, en Colombia durante el año 2017.



Seropositividad de *Salmonella* spp. en muestras de porcinos en Colombia durante el año 2017.

Seropositividad de *Salmonella* spp. en cada departamento incluido en el estudio:

En las muestras analizadas, los departamentos que mostraron una seropositividad mayor al 70% son Quindío, Huila y Boyacá, entre el 69% a 50% Risaralda y Caldas, entre 49% al 40% se encontró a Cundinamarca y Antioquia, por último menor al 40% Valle de Cauca y Cauca. (Tabla 6, figura 10 y 11).

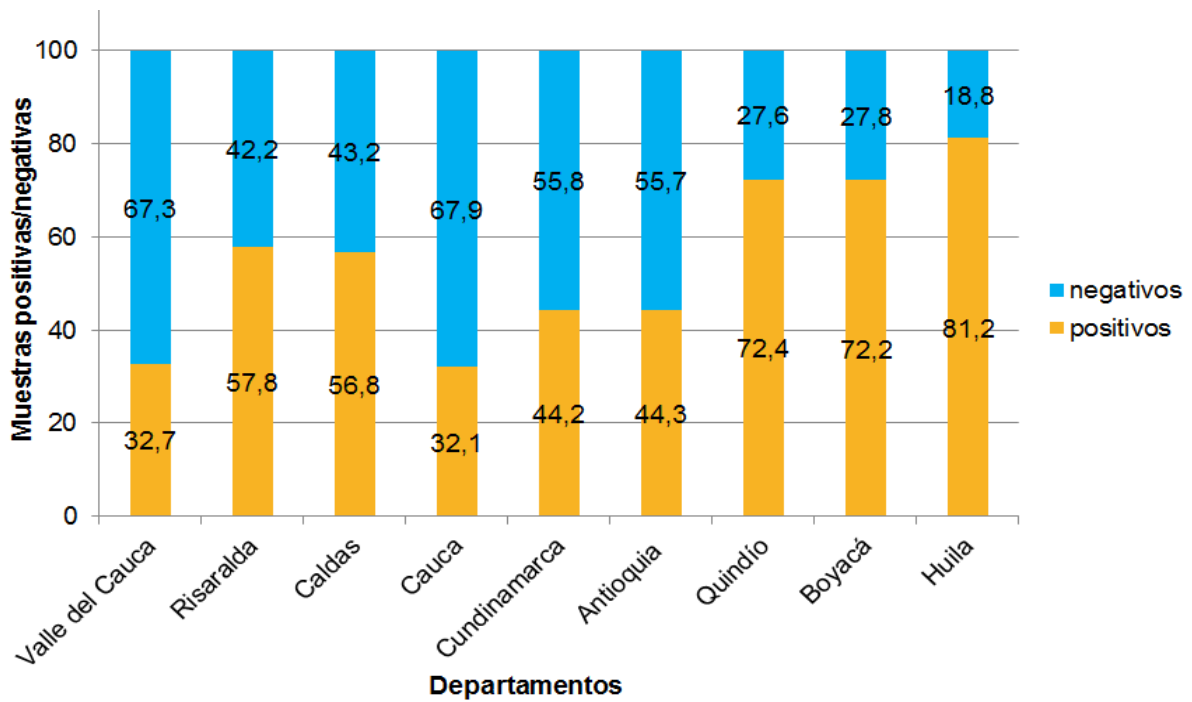
No se tuvo en cuenta el resultado de seropositividad de muestras de Nariño, Meta y “no informa”, ya que, la cantidad de muestras era insuficiente para una relevancia en el análisis.

Tabla 6: Seropositividad de *Salmonella* spp. en muestras de porcinos, por departamento, en Colombia, año 2017.

Seropositividad de <i>Salmonella</i> spp. por departamento					
Departamento	n=1460	Positivo	Porcentaje positivo%	Negativo	Porcentaje negativo%
Valle del Cauca	871	285	32,7	586	67,3
Risaralda	135	78	57,8	57	42,2
Caldas	125	71	56,8	54	43,2
Cauca	112	36	32,1	76	67,9
Cundinamarca	86	38	44,2	48	55,8
Antioquia	61	27	44,3	34	55,7
Quindío	29	21	72,4	8	27,6
Boyacá	18	13	72,2	5	27,8
Huila	16	13	81,2	3	18,8
Nariño	5	4	80,0	1	20,0
Meta	1	1	100,0	0	0,0
No informa	1	1	100,0	0	0,0

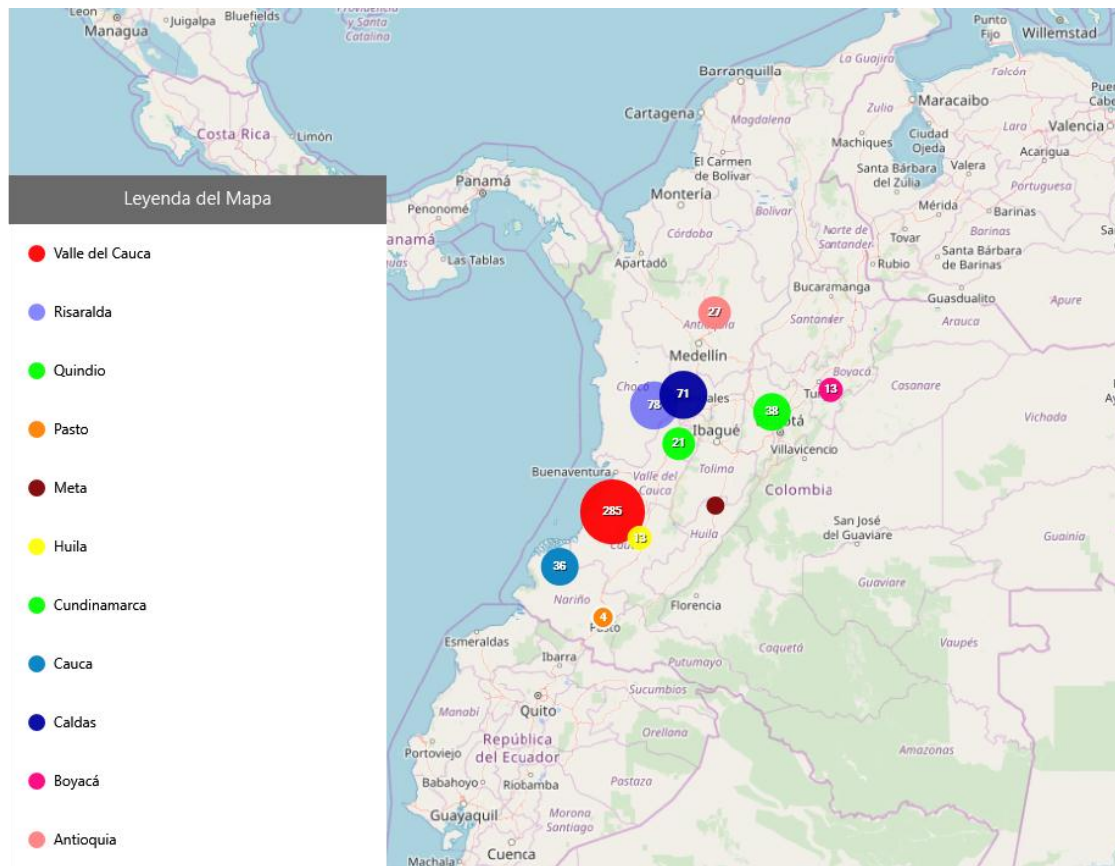
Departamentos incluidos en el estudio, muestra (n) el total de las muestras de porcinos, cantidad de muestras positivas (positivo) y porcentaje de seropositividad de las muestras de porcinos (porcentaje positivo %), cantidad de muestras negativas (negativo) y porcentaje de seronegatividad de las muestras de porcinos (porcentaje negativo %).

Figura 10: Porcentaje de muestras seropositivas y seronegativas de *Salmonella* spp en porcinos de diferentes departamentos de Colombia, año 2017.



Eje x: Departamentos incluidos en el estudio. Eje y: Porcentaje de muestras seropositivas (amarillo) y seronegativas (azul).

Figura 11: Muestras de porcinos positivas para *Salmonella* spp. en Colombia durante el año 2017. Mapa de casos agrupados.



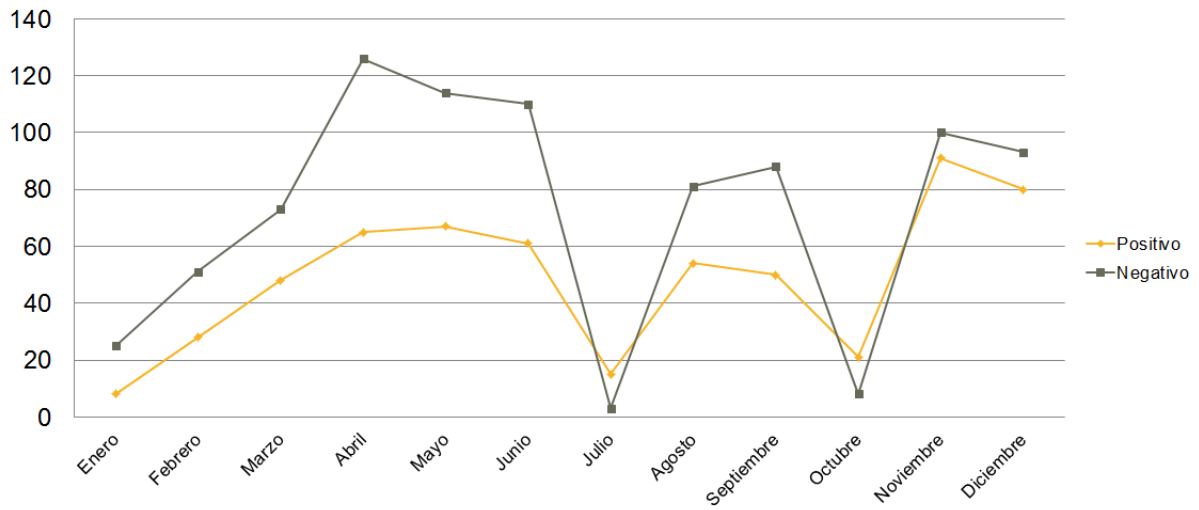
Adicional, en el estudio se incluyó la seropositividad mensual de *Salmonella* spp. durante el año 2017 (Tabla 7), en donde los meses que obtuvieron más de 50 muestras positivas se correlacionan con los meses donde las temperaturas suben, dichas temperaturas fueron tomadas del Climate Data Org⁵⁸, como se puede observar en las figuras número 12 y 13.

Tabla 7: Seropositividad mensual de *Salmonella* spp. en muestras de porcinos en el año 2017.

Seropositividad de <i>Salmonella</i> spp. mensual					
Mes	n=1460	Positivo	Porcentaje positivo%	Negativo	Porcentaje negativo%
Enero	33	8	24,2	25	75,8
Febrero	97	28	28,9	51	71,1
Marzo	121	48	39,7	73	60,3
Abril	191	65	34,0	126	66,0
Mayo	181	67	37,0	114	63,3
Junio	171	61	35,7	110	64,3
Julio	18	15	83,3	3	16,7
Agosto	135	54	40,0	81	60,0
Septiembre	138	50	36,2	88	63,8
Octubre	29	21	72,4	8	27,6
Noviembre	191	91	47,6	100	52,4
Diciembre	173	80	46,2	93	53,8

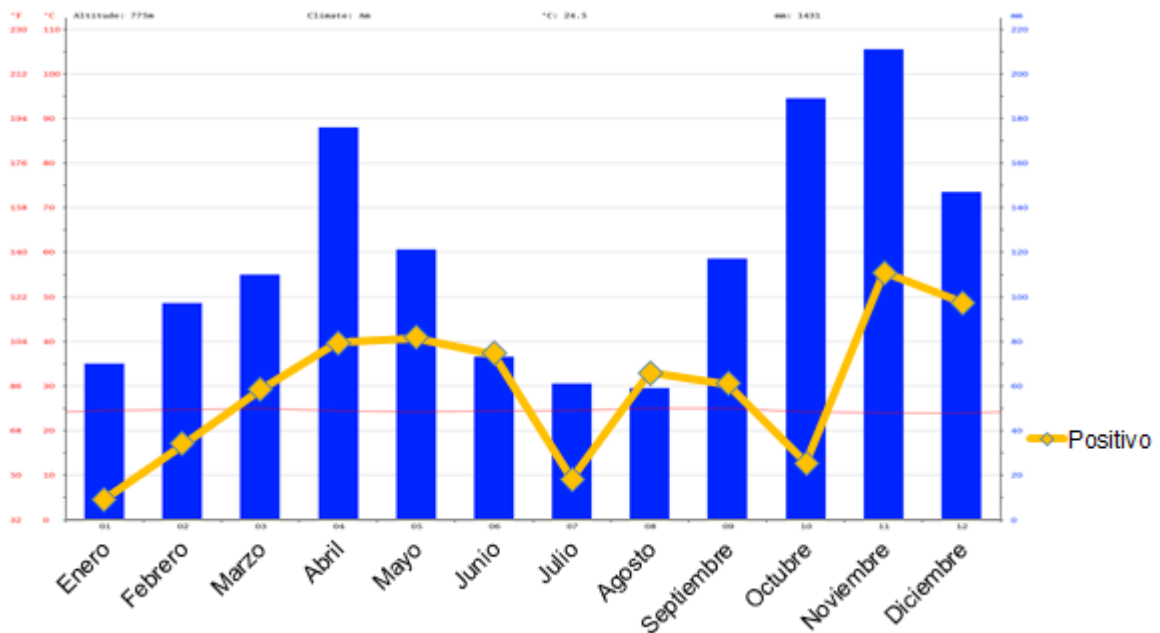
Meses incluidos en el estudio, muestra (n) el total de las muestras de porcinos, cantidad de muestras positivas (positivo) y porcentaje de seropositividad de las muestras de porcinos (porcentaje positivo %), cantidad de muestras negativas (negativo) y porcentaje de seronegatividad de las muestras de porcinos (porcentaje negativo %).

Figura 12: Seropositividad mensual de *Salmonella* spp. en muestras de porcinos en el año 2017.



Eje x: Meses del año 2017. Eje y: Total de número de muestras durante el mes.

Figura 13: Seropositividad mensual de *Salmonella* spp. en las muestras analizadas, en comparación al climograma durante el año 2017, Climate Data Org.



Eje x: Meses del año 2017. Línea amarilla: Total de muestras seropositivas de *Salmonella* spp. mensual en el presente estudio. Eje y: Barras de color azul indicando temperaturas registradas por Climate Data Org durante cada mes.

ANÁLISIS BIVARIADO:

Posibles factores de asociación a seropositividad de *Salmonella* spp:

Se buscaron factores asociados a la seropositividad de *Salmonella* spp. frente a las características de raza y sexo. En cuanto a las razas, se evidenció significancia frente a la raza Pic (Tabla 8), siendo éste un posible factor de asociación.

No se tuvo en cuenta el resultado frente a las razas Landrace y Traxx, ya que, la cantidad de muestras era insuficiente para una relevancia en el análisis.

Tabla 8: Asociación de seropositividad de *Salmonella* spp. según las razas.

Factores de asociación de <i>Salmonella</i> spp.								
Factor raza	Positivo	Porcentaje positivo (%)	Negativo	Porcentaje negativo (%)	p	RP	IC 95%	
Camborough	5	18,5	22	81,5%	0.050	0,502	0.227	1,112
Landrace	4	80,0%	1	20,0%	0,042 ^{*,b}	2,208	1,415	3,447
Pic	302	34,8%	565	65,2%	0,033 [*]	0,821	0,689	0,979
Pientrain	12	36,4%	21	63,6%	0,994	0,998	0,631	1,578
Topigs	38	43,7%	49	56,3%	0,143	1,112	0,948	1,570
Traxx	15	75,0%	5	25,0%	0,000 [*]	2,100	1,610	2,738

Prueba χ^2 , estadísticamente significativo p <0,05.

Factor: raza. Cantidad de muestras positivas (positivo) y porcentaje de seropositividad de las muestras de porcinos (porcentaje positivo %). Cantidad de muestras negativas (negativo) y porcentaje de seronegatividad de las muestras de porcinos (porcentaje negativo %). Nivel de significancia (p). Razón de prevalencia (RP). Intervalo de confianza (IC 95%)

En contrario a las razas, el sexo no arrojó ningún nivel de significancia, traduciendo así que, no es relevante el sexo del animal, *Salmonella* spp. se puede presentar de

la misma forma tanto en hembras como en machos, anulando la posibilidad de ser un factor de asociación (Tabla 9).

Tabla 9: Asociación de seropositividad de *Salmonella* spp. según el sexo.

Factores de asociación de <i>Salmonella</i> spp.								
Factor raza	Positivo	Porcentaje positivo (%)	Negativo	Porcentaje negativo (%)	p	RP	IC 95%	
Hembra	461	41,0	663	59,0	0,233	1,135	0,916	1,106
Macho	60	36,1	106	63,9				

Prueba χ^2 , estadísticamente significativo $p < 0,05$.

Factor: raza. Cantidad de muestras positivas (positivo) y porcentaje de seropositividad de las muestras de porcinos (porcentaje positivo %). Cantidad de muestras negativas (negativo) y porcentaje de seronegatividad de las muestras de porcinos (porcentaje negativo %). Nivel de significancia (p). Razón de prevalencia (RP). Intervalo de confianza (IC 95%)

6. DISCUSIÓN

Es evidente que la afectación en granjas porcinas causada por *Salmonella* spp. representa un reto gigante, debido a que, en gran parte las características de patogenicidad, resistencia y proliferación hacen que la infección se encuentre de forma ubicua. Debido a esta situación es necesario implementar estrategias y planes que conlleven a la detección de la infección en una etapa temprana, evitando pérdidas en la producción porcina, brotes de toxiinfecciones alimentarias causadas por ETA, inversión en el tratamiento de la enfermedad, crecimiento de la resistencia antimicrobiana por el mal uso de éstos, así mismo la importancia y finalidad de ésta investigación fue determinar la cantidad de sueros positivos para *Salmonella* spp. obtenidos de porcinos de diferentes departamentos de Colombia durante el año 2017, asociando diferentes factores que se pueden ver involucrados en dicha seropositividad.

El aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. suele ser laborioso por la competencia de crecimiento que existe entre las Enterobacterias, y más, cuando se tiene una alta población como en el presente estudio. Como una alternativa en el campo, el análisis serológico da la confiabilidad de los resultados de la seropositividad basado en la técnica ELISA indirecta, dado así que ésta busca directamente el anticuerpo frente al LPS presente en la pared de la bacteria⁵⁹. Aun así, ésta técnica no distingue entre la cepa vacunal y la cepa viva, ya que, las cepas que se utilizan para hacer la vacuna son productos de las cepas circulantes. La vacunación como medida de control es poco eficaz, dado que, *Salmonella* spp. tiene una alta variabilidad antigénica y muchos porcicultores omiten el paso de vacunación ya que ésta aún no es obligatoria^{66,67}.

La seropositividad de *Salmonella* spp. se identificó en los departamentos de Colombia presentes en el estudio, en el año 2017. En relación con otros estudios, en el departamento del Tolima, se evidenció que la presencia de *Salmonella* spp. en porcinos aumenta en fases de la producción (beneficio y comercialización) por la contaminación de fómites y la falta de higiene en el proceso²⁰, igualmente sucede en Fómeque y Sibaté, donde las granjas estudiadas no cuentan con un sistema de calidad, prevención y control. Cuando los porcinos presentan la enfermedad, los

porcicultores desconocen el agente etiológico y por ende el tratamiento es tan variado y poco exitoso⁸.

En los departamentos estudiados de Colombia, existió algún porcentaje de seropositividad, en relación con un entorno comercial, se entiende que, hacía el año 2017 el consumo per cápita de carne de cerdo aumentó el doble en comparación al año 2010, esto quiere decir que por colombiano el consumo de carne es de 9.3 kilos, y los departamentos con mayor producción son Antioquia y Valle del Cauca⁵⁴, los cuales en el presente estudio muestran una seropositividad mayor al 30%. Por lo tanto, se podría presentar el consumo de ésta carne contaminada; cuando la concentración de la bacteria se encuentra en $10^{6,5}$ y éste, además es un serotipo zoonótico, causará enfermedad en el humano.

En Antioquia los factores de asociación están relacionados con las condiciones sanitarias, de ésta forma, se analizaron los puntos críticos de la contaminación, entre los cuales se encontraron: entrada de roedores y aves, también animales domésticos como los perros y los gatos. En cuanto a los jefes de áreas y operarios, ellos no cumplen con las medidas de mejora en cuanto a la higiene personal, lavado y baño antes de después de salir de la planta de proceso y respectivas granjas de producción. Adicional, el mal o nulo uso de desinfectantes en las diferentes áreas y el vacío sanitario de los carros transportadores, por último y no menos importante el mal uso de los antimicrobianos en el tratamiento⁶⁰. Así mismo, el riesgo de contraer la infección por *Salmonella* spp. en los porcinos se asocia cuando el porcino es de raza Pic, como se puede comprobar con el presente estudio.

La seropositividad en el departamento de Cundinamarca aumentó a 44,2% comparado con un estudio del año 2015 en donde se determinó una seropositividad de 40%, el número de la población fue muy similar (año 2015: 89 porcinos, año 2017: 86 porcinos⁶¹), fluctuaciones como éstas nos demuestran que la problemática está presente y que las medidas higiénico sanitarias no están siendo atendidas con la pertinencia necesaria, donde el lavado de manos vuelve a jugar un papel fundamental en la transmisión del microorganismo, aunque en muchas granjas, los trabajadores conocen el debido procedimiento y no lo aplican en su rutina diaria¹².

Por otro lado, uno de los métodos de control es la implementación de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP por sus siglas en inglés) que garantiza la inocuidad alimentaria en el proceso y el bienestar del animal. Para detectar el punto crítico de contaminación de la canal en plantas de benfeicio, el análisis debe ser netamente microbiológico. Otro método es la vacunación de los porcinos en la explotación, las vacunas vivas o inactivadas han mostrado excelentes resultados frente a la disminución de la colonización y excreción del patógeno⁶², la desventaja frente a éstas es que van dirigidas a algunos serotipos, disminuyendo la protección frente a otros serotipos o serogrupos⁶³.

Dentro del término ETA se resalta que en la cadena de explotación, los productos derivados de los porcinos están infectados y éstos son consumidos por la población⁶⁴. En el año 2017 los reportes del Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública SIVIGILA, aumentan las cifras en comparación al año 2015 y 2016. Se determinó que los departamentos cuyos registros fueron del 57% de los brotes de ETA en el año 2017 son, Bogotá, Cesar, Sucre, Antioquia, Valle del Cauca, Atlántico y Magdalena; incluyendo a *Salmonella* spp como uno de los causantes, éstos departamentos muestran relación con nuestro estudio ya que en Antioquia y Cundinamarca se presenta una seropositividad mayor al 40% y en Valle del Cauca mayor al 30%; estos resultados de seropositividad son alarmantes teniendo en cuenta que los porcinos ya fueron comercializados⁶⁵.

El SIVIGILA registra como causante de las ETA a *Salmonella* spp., los norovirus, *Campylobacter* y a *Escherichia coli* y los factores de riesgo identificados para *Salmonella* spp, “fallas en la manipulación de los alimentos tal como cocción insuficiente, contaminación posterior a la cocción, tiempos prolongados entre la elaboración y el consumo del alimento y conservación de los alimentos a temperaturas inapropiadas”⁶⁵.

7. CONCLUSIONES

La seropositividad de *Salmonella Spp.* en las 1460 muestras de sueros de porcinos de Colombia durante el año 2017 fue de 40,3%; mostrando así un riesgo para la salud pública.

En los departamentos que más se presentó la seropositividad de *Salmonella spp* fue en Huila con 81,3%, Quindío 72,4% y Boyacá con 72,2%, sin importar el mes del año, en todos se evidenció la presencia de *Salmonella spp*, lo que quiere decir que, la circulación de la bacteria presenta una distribución nacional.

Un nuevo aporte al gremio porcicultor es la asociación entre la presencia de *Salmonella spp* y las razas del porcino, mostrando que la raza Pic presenta una significancia estadística en comparación con las otras razas del estudio, determinado así como un posible factor de asociación.

8. RECOMENDACIONES

Para un próximo estudio de seropositividad de *Salmonella* spp, se recomienda incluir en la encuesta inicial datos relevantes como la edad, la preñez o no de las cerdas, si la granja es tecnificada (para identificar condiciones sanitarias) y la vacunación del animal (para saber si el animal si está infectado o solamente estuvo en contacto con la cepa vacunal), éstos aportarían más claridad al estudio, y también se podrían hacer más estudios relacionados a los factores de asociación.

Además, con datos como la ubicación geográfica exacta con latitud y longitud de cada predio, se podría adicionar el uso de softwars como Diva Gis, el cual es muy usado para el análisis de datos geográficos.

Se recomienda en futuros muestreos, determinar la cantidad de población por departamento y si es posible incluir todos los departamentos de Colombia.

Otros proyectos de investigación que se pueden hacer teniendo en cuenta nuestros resultados de seropositividad de *Salmonella* spp. en porcinos, son los factores de asociación de *Salmonella* spp., con los patógenos *Leptospira* y Parvovirus, puesto que la base de datos de las muestras de suero en las que analizamos *Salmonella* spp., también tienen resultado para éstos.

Es poco probable que la erradicación de la salmonelosis se lleve a cabo por completo, pero, se pueden implementar estrategias de prevención y control, concientizando a la comunidad de interés sobre las repercusiones que trae ésta a nivel económico-sanitario, mitigando el foco principal de transmisión de la enfermedad.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Cossart P, Sansonetti P. Bacterial Invasion: The Paradigms of Enteroinvasive Pathogens. *Science*. [Internet] 2004. [Cited 28 sep. 2018]. 304 (5668): 242-248 Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15073367>
2. Klein E. The Bacteria of Swine Plague. *J Physiol*. [Internet]. 1884 [Cited 22 Sep. 2018] 5 (1): 1-13. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1484881/?page=1>
3. Wolf P, Elbers A, Heijden H, Schie F, Hunneman W, Tielen M. *Salmonella* seroprevalence at the population and herd level in pigs in The Netherlands. *Vet Microbiol*. [Internet]. 2001. [Cited 20 Sep. 2019] 80(2): 171–184. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113500003874>
4. Wong D, Hald T, Wolf P, Swanenburg M. Epidemiology and control measures for *Salmonella* in pigs and pork. *Livest Prod Sci*. [Internet] (2002) [Cited 20 Sep. 2019] 76(3): 215–222. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301622602001215>
5. Wong D, Dahl J, Wol P, Wingstrand A, Leontides L, Altrock A. Recovery of *Salmonella enterica* from seropositive finishing pig herds. *Vet. Microbiol*. [Internet] (2003). [Cited 25 sep. 2019] 97(3-4): 901–214. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037811350300292X>
6. Beloeila P, Chauvina C, Prouxa K, Madeca F, Fravaloa P, Alioumb A. Impact of the *Salmonella* status of market-age pigs and the pre-slaughter process on *Salmonella* caecal contamination at slaughter. *Vet. Res*. [Internet] 2004. [Cited 18 sep. 2019]. 35(5): 513 - 530 Available in: <https://www.vetres.org/articles/vetres/abs/2004/05/V4015/V4015.html>

7. Mejía W. Epidemiología de la Salmonelosis porcina en granjas de Cataluña y determinación de los factores de riesgo de la infección. [Tesis doctoral en Epidemiología]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de veterinaria. [Internet] 2005. [Citado 25 sep. 2018] Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5596/wjms1de1.pdf>
8. Bustos PA, Segura CA. Incidencia de *Salmonella* (*Salmonella spp*) y *E. Coli* en tres granjas porcícolas ubicadas en los municipios de Fόμεque y Sibaté [Trabajo de Grado, para optar al título de Zootecnistas]. Bogotá D.C: Universidad de la Salle. Facultad de Zootecnia. [Internet] 2005. [Citado 28 sep. 2018] Disponible en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6653/00797705.pdf?sequen>
[c](#)
9. Baumann M, Douangngeun B, Fries R, Inthavong P, Kyule M, Srikitjakarn, et al. Microbial contamination of pig carcasses at a slaughterhouse in vientiane capital, lao pdr. CMU. [Internet] 2006. [Cited 28 sep. 2018] 37(6): 1237-1238. Available in: <http://www.thaiscience.info/Journals/Article/TMPH/10472383.pdf>
10. Mejia W, Casal J, Zapata D, Sanchez G, Martin M, Mateu, E. Epidemiology of *Salmonella* infections in pig units and antimicrobial susceptibility profiles of the strains of *Salmonella* species isolated. Vet. Rec. [Internet] 2006. [Citado 20 sept. 2019] 159(9): 271–276. Available in: <https://veterinaryrecord.bmj.com/content/159/9/271.short>
11. Food Standards Agency. Serious about *Salmonella* a guide for pig producers. FSA/1221/1207. [Internet] 2007. [Cited 2 Oct. 2018]: 7-9. Available in: https://assurance.redtractor.org.uk/contentfiles/Farmers-5504.pdf?_=635912156511829816
12. Corrales L, Angel V, Caicedo D. Identificación de *Salmonella* y *Escherichia coli* en manos y guantes de manipuladores en planta de sacrificio y faenado de un

municipio de Cundinamarca. NOVA. [Internet] 2008. [Citado 5 Oct. 2018] 6 (9): 20-24. Disponible en: <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/6647>

13. Malbrán C. Identificación y Serotipificación de *Salmonella spp.* San José de Costa Rica. [Internet] 2009. [Citado 5 Oct. 2018] Disponible en: http://bvs.panalimentos.org/local/File/CD_CURSO_%20AVANZADO_WHO_GSS_COSTA_RICA_2009/02_martes_28%20abril/20090428_Identif_serotipif_Salmonella_spp.pdf

14. Caffer M, Centrón D, Giacoboni G, Ibar M, Perfumo C, Piñeyro, et al. Serovariedades de *Salmonella enterica* subespecie enterica en porcinos de faena y su resistencia a los antimicrobianos. Rev. argent. microbiol. [Internet] 2009. [Citado 7 Oct. 2018] 41 (3): 156-162. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v41n3/v41n3a07.pdf>

15. Aabo S, Christensen B, Hansen T. *Salmonella* in Pork Cuttings in Supermarkets and Butchers' Shops in Denmark in 2002 and 2006. Zoonoses and Public Health [Internet] 2010. [Cited 9 Oct. 2018] 57: 23-29. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21083815>

16. Wales A, Cook A, Davies R. Producing *Salmonella*-free pigs: a review focusing on interventions at weaning. Vet. Rec. [Internet] 2011. [Cited 20 Sept. 2019] 168(10): 267–276 Available in: <http://epubs.surrey.ac.uk/825271/>

17. Cuervo C, Vergara L, Zapata J. Detección de bacterias del género *Salmonella sp.* en matadero de porcinos de un municipio de Antioquia. Revista Facultad de Ciencias Forenses y de la Salud [Internet] 2012. [Citado 9 Oct. 2018] 8: 73-77. Disponible en: <http://ojs.tdea.edu.co/index.php/forenses/article/view/156>

18. Henao JS, Ramírez E, Rondón I. Análisis de las Buenas Prácticas de Producción en granjas porcícolas del departamento del Tolima y factores de riesgo

asociados a la presencia de *Salmonella spp.* Revista CES [Internet] 2012. [Citado 30 Oct. 2018] 7 (2): 11-18. Disponible en:

<http://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/2701/2054>

19. Arguello H, Carvajal A, Collazos J, García C, Rubio P. Prevalence and serovars of *Salmonella enterica* on pig carcasses, slaughtered pigs and the environment of four Spanish slaughterhouses. FOOD RES INT [Internet] 2012. [Cited 30 Oct. 2018] 45(2): 905–912. Available in:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096399691100247X>

20. Marín GA, Rodríguez GA, Rendón I. Determinación de la seroprevalencia de *Salmonella spp.* en granjas porcinas del departamento del Tolima. Revista Estudiantil. [Internet] 2013. [Citado 30 Oct. 2018] 18 (1): 60-65. Disponible en:

<http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v18n1/v18n1a07.pdf>

21. Arcos E, Mora L, Fandiño L, Rondón I. *Salmonella spp.* prevalence in pork, slaughterhouses and butcher's shops in the Tolima department of Colombia. Rev. Orinoquia. [Internet] 2013. [Cited 30 Oct. 2018] 17 (1): 59-68. Available in:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-37092013000100007&script=sci_abstract

22. Caranguay M, Guerra A, Hidalgo C, Ibarra M, Paz M, Rocha A, et al. Prevalencia de *Salmonella spp.* (no tifoideas) en el Departamento de Nariño, Colombia 2011. Univ. Méd. [Internet] 2014. [Citado 31 Oct. 2018] 55 (4): 365-373. Disponible en:

<http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/vnimedica/article/view/16330>

23. Gonzales M. Epidemiología de *Salmonella spp.* en porcinos de engorde. [Tesis doctoral en epidemiología] Valencia: Instituto Valenciano de Investigación Agraria, Universidad Cardenal Herrera; [Internet] 2014. [Citado 28 Abr. 2019] Disponible en:

<http://dspace.ceu.es/bitstream/10637/7124/1/Epidemiolog%C3%ADa%20de%20S>

[almonella%20spp.%20en%20porcinos%20de%20engorde Tesis Marta%20Gonz%C3%A1lez%20Clari.pdf](#)

24. Zabaleta G. Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella* spp., aisladas en la cadena cárnica porcina en tres regiones del país. [Trabajo de grado, presentado como requisito parcial para optar por el título de Bacterióloga]. Bogotá: Pontificia universidad javeriana [Internet] 2014. [Citado 20 sept. 2019] Disponible en:

<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/15443/ZabaletaEspinosaGabrielaAndrea2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

25. Santos S, Bermúdez P, Suárez M. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* enterica isolated during the pre-harvest period in swine in Colombia. Salud Públ. [Internet] 2015 [Cited 25 Sept. 2019] 17 (1) Available in:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-00642015000100010

26. Ayala C, Ballen C, Carrascal A, Chamorro I, Poutou R, Rico M, et al. Prevalence of *Salmonella* spp., in mesenteric pig's ganglia at Colombian benefit plants. Rev.MVZ Córdoba [Internet] 2018 [Cited 30 Oct. 2018] 23 (1): 6474-6486. Available in:

<http://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/revistamvz/article/view/1242>

27. Casos de fiebre tifoidea aumentan un 45% con 956 pacientes, según MINSAL. [Línea]: Salvador; periódico digital 102 nueve balance informativo 2019 [Citado 17 de septiembre de 2019]. Disponible en:

<http://www.102nueve.com/2019/05/13/casos-de-fiebre-tifoidea-aumenta-un-45-con-956-pacientes-segun-minsal/>

28. Eng K, Pusparajah P, Mutalib N, Chan K, Lee H. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. Frontiers in Life Science.

[Internet] 2015 May [Cited 27 Mar. 2018] 8(3), 248-293. Disponible en:
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21553769.2015.1051243>

29. Angulo F, Brenner F, Swaminathan B, Tauxe R, Villar R. *Salmonella* Nomenclature. Journal of clinical microbiology. [Internet] 2000 [Cited 27 Mar. 2018] 38(7): 2465–2467. Available in: <https://jcm.asm.org/content/38/7/2465#ref-list-1>

30. Puentes A. Determinación de perfiles de resistencia antimicrobiana para *Salmonella spp*, *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus spp* en la cadena productiva avícola: abuelas, reproductoras y pollo de engorde. [Trabajo de grado como requisito parcial para optar al título de Magister en Ciencias Pecuarias]. Tolima: Universidad del tolima. [Internet] 2017. [Citado 23 Sept. 2019] Disponible en:
<http://repository.ut.edu.co/bitstream/001/2758/1/T%200957%20018%20CD6009.pdf>

31. Meyerholz D, Stabel T. Comparison of Early Ileal Invasion by *Salmonella* enterica Serovars Choleraesuis and Typhimurium. Veterinary Pathology, [Internet] 2003 [Cited 27 Mar. 2018] 40(4), 371–375. Available in:
<https://doi.org/10.1354/vp.40-4-371>

32. El sistema inmunitario y la inmunidad en el cerdo: Inmunidad de la mucosa. [línea] 3tres3 Comunidad profesional porcina. 2017 [Citado 25 de septiembre de 2019]. Disponible en: https://www.3tres3.com/articulos/el-sistema-inmunitario-y-la-inmunidad-en-el-cerdo-inmunidad-de-mucosa_38827/

33. Figueroa I, Verdugo A. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella sp*. Rev. Lat. Microbiología. [Internet] 2005. [Citado 21 Ene. 2019] 47(1-2): 25-42 Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2005/mi05-1_2e.pdf

34. Gavilares M, Saucedo M. Las Map cinasas: Elementos de señalización en la defensa de las plantas contra patógenos*. REB [Internet] 2005. [Citado 21 Ene. 2019] 24(1): 4-11 Disponible en:
[http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2005/01/e_4_11_MARIANA_SAUCEDO_GARCIA\[1\].pdf](http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2005/01/e_4_11_MARIANA_SAUCEDO_GARCIA[1].pdf)
35. Iregui C, Romero S. El Lipopolisacárido. Rev. Med. Vet. [Internet] 2010. [Citado 26 Ene. 2019] (19): 37-42 Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n19/n19a04.pdf>
36. Vega A, Palacios P, Isibasi A, Moreno E, López C. Modulación de la respuesta inmune por los lipopolisacáridos bacterianos. Rev Alerg Mex. [Internet] 2016. [Citado 17 Abr. 2019] 63(3):293-302. Disponible en:
<http://revistaalergia.mx/ojs/index.php/ram/article/view/207/349>
37. Österberg J. Salmonella in Pigs. Infection Dynamics of Different Serotypes. [Tesis doctoral] Swedish University of Agricultural Sciences. [Internet] 2010. [Cited 17 Abr. 2019] Available in:
https://pub.epsilon.slu.se/2387/1/osterberg_julia_101101.pdf
38. Organización Mundial de Sanidad Animal. Salmonelosis. Manual de animales terrestres. 7ª edición 2012. Tomos 1 y 2. P. 1 -16. [Citado 17 Abr. 2019] Disponible en:
http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.09.08_SALMONELLOSIS.pdf
39. Becton Dickinson GmbH, BD XLD Agar (Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar), Instrucciones de uso – medios en placa listos para usar, Alemania, Becton, Dickinson and Company, [Internet] 2013. [Citado 25 Sept. 2019] P. 1- 4 Disponible en: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8783>

40. Laboratorios Britania S.A, Lisina Hierro Agar, Argentina, [Internet] 2015. [Citado 27 Sept. 2019] P. 1- 2 Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a282fb7b6204.pdf
41. Esteve P, Detección de la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* En alimentos por técnicas de cultivo y técnicas moleculares, [trabajo fin de grado en: en Ciencias y Tecnología de los Alimentos], Valencia, universitat politècnica de valència, [Internet] 2017. [Citado 23 Sept. 2019] Disponible en: https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/85541/memoria_20855937.pdf?sequence=1
42. Ocho r, técnicas inmunoenzimáticas para ensayos clínicos de vacunas y estudios inmunoepidemiológicos, 1ra edición, la habana, cuba, finlay ediciones, 2012, [citado 17 abr. 2019], disponible en: <http://www.finlay.sld.cu/ediciones.htm>
43. Dominguez L, Concepción M, Creu E, Rubio P, Fernandez V, Velasco J, et al, Monográfico *Salmonella*, ANAPORC, 2006, 33:28- 64, [Citado 17 Abr. 2019], Disponible en: <https://www.archivo-anaporc.com/>
44. . Flores R, Epizootiología de la salmonelosis en bovinos, porcino y aves, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias S.A.R.H, México D.F, 1981, [Citado 17 Abr. 2019], Disponible en: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol3/CVv3c05.pdf>
45. Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Dirección Técnica de Inocuidad e Insumos Veterinarios, Registro de biológicos veterinarios vigentes a mayo 2017, [Citado 17 Abr. 2019], Disponible en: https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/regulacion-y-control-de-medicamentos-veterinarios/biologicos/productos-biologicos-veterinarios/biologicos_2017.aspx

46. Romero J, “Detección a través de PCR de *Escherichia coli* enterotoxigénicas en terneras de 1 a 15 días de edad en un hato lechero ubicado en la sabana de Bogotá en el municipio de Madrid, Cundinamarca”, Trabajo de Grado para optar al título de Médico Veterinario, Bogotá, Universidad de La Salle, 2016, [Citado 17 Abr. 2019], Disponible en: http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/21267/14111002_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y
47. Callegari M, Dalto D, Silva C, A Review of Prevention and Control Methods of *Salmonella* species in Swine Production and the Role of Dietary Non-Nutritional Additives, AJAVA, 2015, 10 (12): 803-829, [Citado 17 Abr. 2019], Disponible en: <https://scialert.net/fulltextmobile/?doi=ajava.2015.803.829>
48. Carrero H, Manual de producción porcicola, Tuluá, SENA, 2005, [Citado 17 Abr. 2019], Disponible en: https://repositorio.sena.edu.co/bitstream/11404/4270/1/porcinos_2005.pdf
49. Colombia también le apuesta al mejoramiento genético de porcinos, [Linea]: Colombia, CONtexto ganadero, [fecha de consulta 17 de Sept. de 2019] Disponible en: <https://www.contextoganadero.com/agricultura/colombia-tambien-le-apuesta-al-mejoramiento-genetico-de-porcinos>
50. Colombia, Ministerio de Salud y Protección Social, Grupo de vigilancia y control de factores de riesgo ambiental, PROTOCOLO DE VIGILANCIA Y CONTROL DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS, 2010, [Citado 17 Abr. 2019], Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/comunicadosPrensa/Documents/ETA.pdf>
51. Colombia, Secretaria Distrital de Salud de Bogotá, Dirección de Salud Pública, Enfermedades transmitidas por alimentos ETA [Citado 17 Abr. 2019], Disponible en: <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Protocolos%20de%20>

[Vigilancia%20en%20Salud%20Publica/Enfermedades%20Transmitidas%20por%20Alimentos.pdf](#)

52. Betancor L, Yim L, *Salmonella* y salmonelosis, UdelaR, Uruguay, 2012 [Citado 17 Abr. 2019], Disponible en: http://higiene1.higiene.edu.uy/DByV/Salmonella_y_salmonelosis.pdf

53. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Censo Pecuario Nacional - 2017. Censo porcino en Colombia. . [Citado 17 Sept. 2019] 2017. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-2016/censo-2017.aspx>

54. Colombia, Revista Dinero, Sector porcicultor, uno de los más productivos del momento, 2/15/2018, [Citado 17 Abr. 2019], Disponible en: <https://www.dinero.com/edicion-impres/negocios/articulo/balance-del-sector-porcicultor-en-colombia/255321>

55. Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Colombia sanidad animal 2010, Edición: Diciembre de 2012, [Citado 17 Abr. 2019], Disponible en: <https://www.ica.gov.co/getattachment/5822cada-667f-4541-8b86-c0258be04b64/2010.aspx>

56. Arenas C, Doblaz A, Riveroa A, Jimenezca & Torre J. Fiebre tifoidea y otras infecciones por *Salmonella*. *Medicine*. [Internet] 2010. [Citado 17 Abr. 2019] 10(52):3497-3501. Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Tifoidea_otras_Salmonellas_Medicine2010o0.pdf

57. Organización Panamericana de la Salud OPS, Higiene personal, Inocuidad de los Alimentos - Buenas Prácticas [Citado 17 Abr. 2019], Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10823:2

[015-higiene-personal&Itemid=42210&lang=pt](https://es.climate-data.org)

58. Datos climáticos mundiales, clima: américa del sur, [línea], Colombia, climate-data, fecha de consulta 20 de septiembre de 2019]. Disponible en:

<https://es.climate-data.org>

59. Schwarz P., Kich J.D., Coldebella A., Seyboth L., Romeiro C., Et Al. Freqüência de suínos soropositivos para *Salmonella sp.* em granjas afetadas em diferentes níveis de severidade pela Síndrome Multissistêmica de Definhamento do Leitão Desmamado. [Internet]. 2010. [Citado 17 Aug. 2019] 38 (2): 127-132. Disponible en: <https://seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/16609>

60. Betancur E, Control de Salmonellosis en cerdos con uso de aditivos y sin el uso de antibióticos en el alimento, en cinco granjas porcícolas del municipio de Santa Rosa de Osos (Antioquia), [Trabajo de grado para optar por el título de Médica Veterinaria], Antioquia, Corporación Universitaria Lasallista, [Internet] 2018. [Citado 31 Agosto 2019] Disponible en:

http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/2135/1/Control_Salmonellosis_cerdos.pdf

61. Millán L. Evaluación serológica frente a *Salmonella spp*, *Yersinia spp* y *Leptospira spp.*, con potencial zoonótico en granjas porcícolas de Cundinamarca Colombia. Bogotá. Pontificia universidad javeriana. [Internet] 2015. [Citado 7 Sept. 2019] Disponible en:

<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/34217/MillanPerezLuisaFernanda2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

62. Cruz M, Aplicación de herramientas cuantitativas para el estudio epidemiológico de zoonosis, [Memoria para optar al grado de Doctor], Madrid, Universidad Complutense de Madrid [Internet] 2018. [Citado 7 Sept. 2019]

Disponible en: <https://eprints.ucm.es/55136/1/T41050.pdf>

63. Ortega M, Prevalencia de *Salmonella spp.* en cerdas reproductoras en España, [Trabajo para optar por el título de médico veterinario], Valencia, Universidad católica de Valencia. [Internet] 2019. [Citado 7 Sept. 2019] Disponible en:
<https://riucv.ucv.es/bitstream/handle/20.500.12466/79/TFG%20MARC%20definitiu.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
64. Instituto Nacional de Salud INS, Características de los aislamientos de *Salmonella spp.* En Colombia Resultados de la vigilancia 2000-2013, [Citado 28 Sept. 2019], Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Informe%20Vigilancia%20por%20laboratorio%20de%20Salmonella%20spp%202000-2013.pdf>
65. Instituto Nacional de Salud INS, Informe del evento, Enfermedades transmitidas por alimentos Colombia 2017, [Citado 28 Sept. 2019], Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/ETA%202017.pdf>
66. Mainar R, Casanova A. La vacunación frente a *Salmonella* en ganado porcino, ¿qué podemos esperar? [Internet]. 2018. [Citado 1 Nov. 2019] Disponible en: https://www.3tres3.com/articulos/la-vacunacion-frente-a-salmonella-en-ganado-porcino_40199/
67. Yuan C, Krull A, Wang C, Erdman M, Logue C, O'Connor A; Changes in the prevalence of *Salmonella* serovars associated swine production and correlations of avian, bovine and swine-associated serovars with human-associated serovars in the United States (1997-2015); Zoonoses Public Health. [Internet] 2018. [Citado 1 Nov. 2019] Disponible en: https://www.3tres3.com/abstracts/cambios-en-prevalencia-de-serovares-de-salmonella-en-porcinos_41482/

10. ANEXOS

Anexo 1: inserto de PrioCHECK™ Porcine Salmonella Kit.

PrioCHECK® Salmonella Ab porcine

ELISA for *in vitro* detection of antibodies against Salmonella in plasma and serum of pigs

50 plate kit for 4500 samples
©Prionics AG

Version 6.0_e

Package Insert

For *in-vitro* veterinary diagnostic use only
Store at 5±3°C
Product No.: 7610480

Introduction

Salmonellosis is one of the most important zoonotic diseases, causing serious clinical signs in human beings. Pigs have been recognized as an important source for these Salmonella infections. Especially infected pig herds constitute a public health risk as a source of contamination of meat at slaughter. Surveillance and diagnosis of infected pig herds can be easily achieved by testing for Salmonella antibodies in serum or meat juice. The PrioCHECK® Salmonella Ab porcine originates from the Danish Veterinary Institute (Nielsen et al., 1995) and has been successfully applied in the control program for Salmonella in pigs in Denmark. Additionally, the ELISA is often used as the Gold Standard in the development of other Salmonella ELISA's (van der Heijden, 2001). The PrioCHECK® Salmonella Ab porcine can be used to detect infection in pigs caused by Salmonella strains belonging to the serogroup B, C1 and D (the most common serotypes isolated in Europe, Asia and America). The test is suitable for large-scale screening and for application in control programs of Salmonella infections in swine.^{1,2}

Test Principle

The PrioCHECK® Salmonella Ab porcine is an indirect ELISA for the detection of Salmonella antibodies in swine and detects antibodies against Salmonella polysaccharide LPS O-antigens 1, 4, 5, 6, 7 and 12. Plates are coated with the purified LPS isolated from *S. typhimurium* and *S. choleraesuis*. The conjugate is rabbit-anti swine serum coupled to horse radish peroxidase. Test samples are pre-diluted in a dummy plate and transferred to the corresponding wells of the test plate and incubated at room temperature (22±3°C). Subsequently plates are washed and the HRPO conjugate is added and incubated at 22±3°C. After the plates are washed the ready-to-use Chromogen (TMB) Substrate is dispensed to all wells of the Test Plate. After incubation at 22±3°C the color development is stopped and measured at 450 nm.

Kit Components

Store kit at 5±3°C until the expiry date. See kit I label for actual expiry date.

The shelf life of diluted, opened or reconstituted components is noted below, where appropriate. Chemical hazard data are available in section "Safety Regulations and R&S Statements" (Appendix II).

Component 1

Test Plate
Fifty test Plates.

Component 2

Conjugate (30x)
(30x concentrate, dilute before use). Two vials containing 12 ml of Conjugate.
Diluted Conjugate is not stable, prepare just before use.

Component 3

Dilution Buffer (5x)
(5x concentrate, dilute before use) One vial containing 500 ml of Dilution Buffer.
Shelf life of dilution buffer working solution: 4 hours at 22±3°C.

Component 4

Washing Fluid (200x)
(200x concentrate, dilute before use) Two vials containing 60 ml of Washing Fluid.
Shelf life of washing solution: 1 week at 22±3°C.

Component 5

Negative Control (ready-to-use)
One vial containing 4.5 ml of Negative Control.

Component 6

Validation Control (ready-to-use)
One vial containing 3.5 ml of Validation Control.

Component 7

Positive Control (ready-to-use)
One vial containing 4.5 ml of Positive Control.

Component 8

Chromogen (TMB) Substrate (ready-to-use)
One vial containing 500 ml and 1 vial containing 60 ml of Chromogen (TMB) Substrate.

Component 9

Stop Solution (ready-to-use)
One vial containing 500 ml and 1 vial containing 60 ml of Stop Solution.

Additional Kit Contents:

- Package Insert
- 100 plate sealers
- Certificate of analysis

Additional Material Required

Dummy plates for pre-dilution of the sample (U-shaped plates). Prionics Art. Nr: 761000 (5 plates)

General:

Laboratory equipment according to national safety regulations.

Analysis of Results:

Plate Reader e.g. Multiscan EX or equivalent.
The reader has to have an appropriate filter set to read the plates at 450 nm.

Optional:

Plate washer e.g. Tecan EIA Tray Washer or equivalent.

Test Procedure

Precautions

National guidelines for working with animal samples must be strictly followed. The PrioCHECK® Salmonella Ab porcine must be performed in laboratories suited for this purpose. Samples should be considered as potentially infectious and all items which contact the samples as potentially contaminated.

Chemical hazard data are available in section "Safety Regulations and R&S Statements" (Appendix II).

Notes

To achieve optimal results with the PrioCHECK® Salmonella Ab porcine, the following aspects must be considered:

- **The Test Procedure protocol must be strictly followed**

- All reagents of the kit must be equilibrated to room temperature (22±3°C) before use.
- Pipette tips have to be changed for every pipetting step.
- Separate solution reservoirs must be used for each reagent.
- Kit components must not be used after their expiry date or if changes in their appearance are observed.
- Kit components of different kit lot numbers must not be used together.
- Demineralized or water of equal quality must be used for the test.

SOLUTIONS TO BE MADE IN ADVANCE

Dilution buffer working solution

The Dilution Buffer (Component 3) must be diluted 5 times in demineralized or distilled water.
Stability of dilution buffer working solution: 4 hours at 22±3°C.

Conjugate dilution

Prepare dilution of the Conjugate (Component 2) in dilution buffer working solution. To perform a test with one plate, prepare 12 ml (add 0.4 ml concentrated conjugate to 11.6 ml of dilution buffer).

Note: The diluted conjugate must be prepared just before use.

Washing solution

The Washing Fluid (Component 4) must be diluted (200x) in demineralized water and is sufficient for a final volume of 12 liters.
Stability of washing solution: 1 week stored at 22±3°C.

PRE-DILUTION OF THE TEST SAMPLES 40X IN A DUMMY PLATE

- 1.1 Dispense 5 µl of test sample to one (single test) or two (duplicate test) adjacent wells of the dummy plate except wells A1 to F1.
- 1.2 Dispense 195 µl of the dilution buffer working solution and mix the contents of the well except wells A1 to F1.
- 1.3 Seal the dummy plate(s) with a plate sealer(s).
- 1.4 Shake the dummy plate(s) during 1 minute, level 700 (for example SLT micro plate shaker EAS 2/4, rpm 1/min level 700, SLT lab instruments).

Note: mixing the sample with the dilution buffer working solution is essential for the test.

INCUBATION OF CONTROL AND TEST SAMPLES

- 2.1 Label each strip of the Test Plate (Component 1) with a marker pen.
- 2.2 Dispense 90 µl of the dilution buffer working solution to all wells of the Test Plate.
- 2.3 Transfer 10 µl of each well of the dummy plate to the wells of the Test Plate.
- 2.4 Dispense 10 µl of the Negative Control (Component 5) to wells A1 and B1.
- 2.5 Dispense 10 µl of the Validation Control (Component 6) to wells C1 and D1.
- 2.6 Dispense 10 µl of the Positive Control (Component 7) to wells E1 and F1.
- 2.7 Seal the test plate(s) with a plate sealer(s).
- 2.8 Shake the plate(s) during 1 minute, level 700 (for example SLT micro plate shaker EAS 2/4, rpm 1/min level 700, SLT lab instruments).
- 2.9 Incubate the Test Plate(s) for 90±5 minutes at room temperature (22±3°C).

PrioCHECK® Salmonella Ab porcine

INCUBATION WITH CONJUGATE

- 3.1 Empty the Test Plate and wash the plate 2x 3 times with diluted washing fluid. Tap the plate firmly after the last wash cycle.
- 3.2 Dispense 100 µl of the working solution of the conjugate to all wells.
- 3.3 Seal the test plate with a plate sealer.
- 3.4 Incubate the plate(s) for 60±5 minutes at room temperature (22±3°C).

INCUBATION WITH CHROMOGEN (TMB) SUBSTRATE

- 4.1 Empty the Test Plate and wash the plate 2x 3 times with diluted washing fluid. Tap the plate firmly after the last wash cycle.
- 4.2 Dispense 100 µl of the Chromogen (TMB) Substrate (Component 8) to all wells.
- 4.3 Incubate the plate(s) 15 minutes at (22±3°C).
- 4.4 Add 100 µl of the Stop Solution (Component 9) to all wells.
- 4.5 Mix the content of the wells of the plate(s).

Note: Start the addition of stop solution 15 minutes after the first well was filled with the Chromogen (TMB) Substrate. Add the Stop Solution in the same order and at the same pace as the Chromogen (TMB) Substrate was dispensed.

READING OF THE TEST AND CALCULATING THE RESULTS

- 5.1 Measure the optical density (OD) of the wells at 450 nm preferable within 15 minutes after color development has been stopped.
- 5.2 Calculate the mean OD₄₅₀ value of the Positive Control (not corrected)
- 5.3 Calculate the mean OD₄₅₀ value of the Negative Control (wells A1 and B1).
- 5.4 Calculate the corrected OD₄₅₀ value of the Positive Control, Validation Control and all samples by subtracting the mean OD₄₅₀ of the Negative Control (wells A1 and B1).
- 5.5 Calculate the percent positivity (PP) of all controls and of the test samples according to the formula below.

The OD₄₅₀ of all samples is expressed as percent positivity (PP) of the Positive Control (wells E1 and F1) corrected with the mean OD₄₅₀ of the Negative Control (wells A1 and B1).

$$PP = \left[\frac{\text{corrected OD}_{450} \text{ test sample}}{\text{corrected OD}_{450} \text{ Positive Control}} \times 75 \right] - 6$$

RESULT INTERPRETATION

Validation criteria

- 6.1 The mean OD₄₅₀ of the Negative Control (wells A1 and B1) must be < 0.4.
- 6.2 The OD₄₅₀ of the Positive Control (not corrected) should be > 1.000.
- 6.3 The percent positivity of the Validation Control must be ≥ 25.
- 6.4 Not meeting these criteria is reason to discard the results of that specific test plate.

Note: If the OD₄₅₀ of the Positive Control (not corrected) is below 1.000 possibly the Chromogen (TMB) Substrate is too cold. In that case pre-warm the solution to 22±3°C or incubate up to 30 minutes.

Interpretation of the percent positivity

PP = <40% (negative)
Salmonella-specific antibodies are absent in the test sample.

PP = ≥40% (positive)
Salmonella-specific antibodies are present in the test sample.

In well-advanced Salmonella control programs the test can be used with a different cut-off (e.g. 20% PP). It

remains in the responsibility of the respective authorities/users to implement such cut-offs.

Appendix I

Notice

This manual is believed to be complete and accurate at the time of publication. In no event shall Prionics AG be liable for incidental or consequential damage in connection with or arising from the use of this manual.

Liability

Prionics AG warrants its products will meet their applicable published specification when used in accordance with their applicable instructions and within the declared products life time. Prionics AG makes no other warranty, expressed or implied. There is no warranty of merchantability or fitness for a particular purpose. The warranty provided herein and the data, specifications and descriptions of Prionics AG products appearing in Prionics AG published catalogues and product literature may not be altered except by express written agreement signed by an officer of Prionics AG. Representation, oral or written, which are inconsistent with this warranty or such publications are not authorized and if given, should not be relied upon.

In the event of a breach of the foregoing warranty, Prionics AG's sole obligation shall be to repair or replace, at its option, the applicable product or part thereof, provided the customer notifies Prionics AG promptly of any such breach. If after exercising reasonable efforts, Prionics AG is unable to repair or replace the product or part, then Prionics AG shall refund to the customer all monies paid for such applicable product or part.

Prionics AG shall not be liable for consequential, incidental, special or any other indirect damages resulting from economic loss or property damage sustained by any customer from the use of its products.

Prionics AG and Prionics Lelystad B.V. are ISO 9001:2000 certified companies.

Appendix II

Safety Regulations and R&S Statements

1. National Safety Regulations must be strictly followed.

R&S Statements

Component 1

Test Plate

Hazard Code: This product is not classified according to EU regulations.

Component 2

Conjugate (30x)

Hazard Code: This product is not classified according to EU regulations.

Component 3

Dilution Buffer (5x)

Hazard Code: This product is not classified according to EU regulations.

Component 4

Washing Fluid (200x)

Hazard Code: This product is not classified according to EU regulations.

Component 5

Negative Control (ready-to-use)

Hazard Code: This product is not classified according to EU regulations.

Component 6

Validation Control (ready-to-use)

Hazard Code: This product is not classified according to EU regulations.

Component 7

Positive Control (ready-to-use)

Hazard Code: This product is not classified according to EU regulations.

Component 8

Chromogen (TMB) Substrate (ready-to-use)

Hazard Code: This product is not classified according to EU regulations.

Component 9

Stop Solution (ready-to-use)

Hazard Code:

R35: Causes severe burns.

S26: In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

S36/37/39: Wear suitable protective clothing, gloves and eye/face protection.

S45: In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately (show the label where possible).

Appendix III

References

1. B. Nielsen, D. Baggesen, F. Bager, J. Haugegaard, P. Lind. Veterinary Microbiology 47 (1995) 205-218
2. H.M.F. van der Heijden. First International Ring Trial of ELISA's for Salmonella- antibody. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. (2001) 389-392.

Contact

Prionics Lelystad B.V.
Platinastraat 33
P.O. Box 2271
NL-8203 AG Lelystad
The Netherlands
Tel. +31 320 714000
Fax +31 320 714029

Prionics AG
Wagistrasse 27a
CH-8952 Schlieren-Zurich
Switzerland
Tel. +41 44 200 2000
Fax +41 44 200 2010
www.prionics.com
info@prionics.com

For our distribution network, please refer to www.prionics.com