

LA SEROLOGÍA COMO HERRAMIENTA PARA EL CONTROL DE LA SALMONELOSIS PORCINA EN LAS EXPLOTACIONES

J. P. Vico y R. C. Mainar Jaime

Unidad de Sanidad Animal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA) del Gobierno de Aragón. Avda. de Montañana 930. 50059 Zaragoza.
E-mail: rcmainar@aragon.es. Tlf. 976 716455

Av. Tecnol. porc. IX (4): 8 - 15

1. INTRODUCCIÓN

Salmonella es uno de los agentes patógenos más comúnmente transmitidos por los alimentos y ampliamente distribuidos en la Unión Europea (EFSA, 2008). Aunque hay varias rutas de transmisión de este patógeno, la mayoría de las infecciones en personas se producen a través del consumo de alimentos contaminados de origen animal. Esta contaminación generalmente ocurre como consecuencia de la previa infección de los animales bien sea en la explotación, en el transporte o en el propio matadero.

En la UE el cerdo está considerado como la segunda fuente de infección de salmonelosis humana tras las aves, y sería responsable de hasta el 26% de los casos humanos (Pires et al., 2011). En los países del sur de Europa podría incluso ser la primera, responsabilizándose de hasta el 43,6% de los brotes de Salmonella diagnosticados, según los mismos autores. En España en particular, en el 31,8% de los casos de salmonelosis estaría implicado el consumo de carne de cerdo.

Son numerosos los serotipos de Salmonella a los que el cerdo es susceptible, pero *Salmonella Typhimurium* y su variante monofásica, denominada 1,4,[5],12:i:-, son dos de los serotipos más predominantes actualmente. *Salmonella Typhimurium* es, junto con *S. Enteritidis*, el principal serotipo identificado en la salmonelosis humana. La variante monofásica de Typhimurium está actualmente considerado un serotipo emergente en Europa y España (Moreno Switt et al., 2009). Ambos serotipos infectan al cerdo de forma asintomática en la mayoría de las ocasiones y además están asociados con la presencia de resistencia a múltiples antibióticos. Así, el cerdo es un importante reservorio de los serotipos de Salmonella con mayor importancia en humana (Boyen et al., 2008).

Debido a todo ello surge la necesidad de controlar esta infección en esta especie ganadera. En este contexto, la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) propone la utilización de indicadores epidemiológicos armonizados (HEI, de acuerdo con sus siglas en inglés) a lo largo de toda la ca-

dena de producción para estimar el riesgo de transmisión de la salmonelosis al hombre (EFSA, 2011). A nivel de explotación, estos HEI medirían directamente la prevalencia o incidencia de salmonelosis en las explotaciones, así como las condiciones de las mismas, identificando así a las de mayor riesgo. Para ello propone la utilización de tres HEIs, (HEI 1, HEI 2, y HEI 3). El HEI 1 se dedicaría a la evaluación del riesgo de introducción de cerdos infectados con *Salmonella* en la reproducción o en las granjas de engorde. El HEI 2 se centraría en la obtención de información sobre la presencia de *Salmonella* y sus serotipos en los cebaderos de cerdos, así como en el seguimiento de las tendencias en el estado sanitario de la granja mediante un muestreo periódico de los cerdos de engorde de la misma granja. Ambos indicadores deberían basarse en la uti-

lización del cultivo bacteriológico como método analítico a partir de pools de muestras de heces, una técnica cara y no exenta de problemas debidos principalmente a su limitada sensibilidad y al requerimiento de varios días para obtener un diagnóstico definitivo (identificación del serotipo). El HEI 3 serviría para clasificar las explotaciones en función de las prácticas de bioseguridad y de manejo existentes, y para ello se aplicarían técnicas de auditoría.

Las pruebas serológicas por lo tanto no se proponen en ningún caso como un posible HEI, aunque se indica que podría utilizarse, dentro del HEI 3, para proporcionar información adicional útil sobre el estado sanitario de la granja cuando se combina con la auditoría de las prácticas de bioseguridad y manejo animal en la explotación.

molimen
energía de la nutrición

**Especialistas
en nutrición**

www.molimen.com
info@molimen.com

Molimen
pasión por la nutrición

A continuación expondremos las características principales de la serología como herramienta de diagnóstico de la salmonelosis porcina y su posible utilización en este contexto.

2. CARACTERÍSTICAS DE LA SEROLOGÍA COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA DE LA SALMONELOSIS PORCINA

Las pruebas serológicas más comúnmente empleadas para el diagnóstico de la salmonelosis porcina están basadas en las técnicas de ELISA indirecto. Estas pruebas detectan, a partir de suero o jugo muscular, la presencia de anticuerpos específicos (generalmente IgGs) frente a *Salmonella* mediante la utilización de una serie de antígenos propios de este género bacteriano.

Existen más de 2.500 serotipos de *Salmonella*, muchos de los cuales comparten características antigénicas que permiten agruparlos en serogrupos. Los ELISAs más utilizados son aquellos diseñados con antígenos obtenidos de los serogrupos B, C1 y D1, que agrupan a la gran mayoría de los serotipos que infectan al cerdo, aunque existen algunos ELISAs que agregan antígenos de otros serogrupos (p. ej. C2, E1 y G2) para ampliar el espectro de serotipos detectables.

Diversos estudios experimentales han mostrado que tras una infección experimental por *Salmonella* spp. los anticuerpos empiezan a detectarse a partir de 7 días post infección (p.i.), observándose picos de máxima concentración de anticuerpos entre los 14 y 30 días p.i. en la mayoría de los animales infectados (Nielsen et al., 1995; Scherer et al., 2008). A partir de ahí, los niveles de anticuerpos se suelen mantener constantes por periodos de tiempo de hasta 18 semanas, incluso aunque los animales logren eliminar la

infección. Esta persistencia de los anticuerpos durante varios meses hace que el ELISA sea considerado una prueba útil para la monitorización de *Salmonella* en cerdos (Scherer et al., 2008). La presencia de anticuerpos es por lo tanto un indicador de una infección/exposición previa a *Salmonella*, pero no necesariamente de una infección actual o de excreción. Además, la ausencia de anticuerpos no descarta definitivamente la infección, puesto que infecciones ocurridas en los primeros 15 días p.i. pueden no llegar a detectarse debido al tiempo requerido para montar la respuesta inmune por parte del animal.

Las principales ventajas que pueden asociarse con los ELISAs tienen que ver con varios aspectos. Por un lado, se trata de una técnica estandarizada que resulta mucho más barata que cualquier otra prueba de diagnóstico directo, es fácil de desarrollar en cualquier laboratorio y se realiza en un corto periodo de tiempo (de 2 a 6 horas). Una ventaja adicional es que la mayoría de los ELISAs comerciales son adecuados para su utilización tanto sobre suero sanguíneo como sobre jugo muscular (generalmente a partir del músculo diafragma). Además, son necesarias pequeñas cantidades de muestra y éstas pueden almacenarse (refrigeradas o congeladas) hasta el momento de su análisis, facilitando de manera importante la logística del muestreo.

Otro aspecto de gran relevancia a la hora de decidir la utilización de una determinada prueba de diagnóstico es su validez diagnóstica. La validez diagnóstica se refiere a la sensibilidad (probabilidad de obtener un resultado positivo si el animal está infectado) y especificidad (probabilidad de obtener un resultado negativo si el animal no está infectado). Aunque de acuerdo con los propios fabricantes de estos ELISAs y con ciertos estudios (principalmente de carácter experimental) estas pruebas se

consideran bastante sensibles para la detección de anticuerpos frente a *Salmonella* spp., la realidad indica que su validez diagnóstica es bastante variable cuando son utilizadas sobre muestras obtenidas de animales de campo. Diversos estudios han demostrado que no existe una buena correspondencia entre los resultados de diferentes ELISAs, aunque se basen en los mismos principios analíticos (Mejía et al., 2005; Mainar-Jaime et al., 2008; Poulin et al., 2010). Tampoco se ha observado una adecuada correlación entre los resultados de serología y de infección (Funk et al., 2005; Nollet et al., 2005; Vico et al., 2010). Esta reducida sensibilidad no debería achacarse sólo a un problema de la técnica, sino también, como se ha indicado anteriormente, con la presencia de infecciones recientes frente a las cuales los animales no han desarrollado todavía una respuesta inmunitaria, o incluso con infecciones por

serotipos de *Salmonella* para los cuales los ELISAs no fueron diseñados. Por estos motivos se suele recomendar la utilización de la serología como método de diagnóstico de rebaño (Harris et al., 2003; Farzan et al., 2007), y se está utilizando en algunos países como una herramienta para clasificar éstos en función de la seroprevalencia observada en un limitado número de animales. Sin embargo también la clasificación de un rebaño puede ser diferente según el ELISA que se utilice (Vico et al., 2010).

Existen otros aspectos de importancia que podrían afectar a la validez diagnóstica de los ELISAs. Estudios recientes han mostrado la existencia de diferencias importantes en los resultados de los ELISAs cuando se utiliza jugo muscular en vez de suero sanguíneo. El jugo muscular podría subestimar la seroprevalencia en los rebaños de cer-

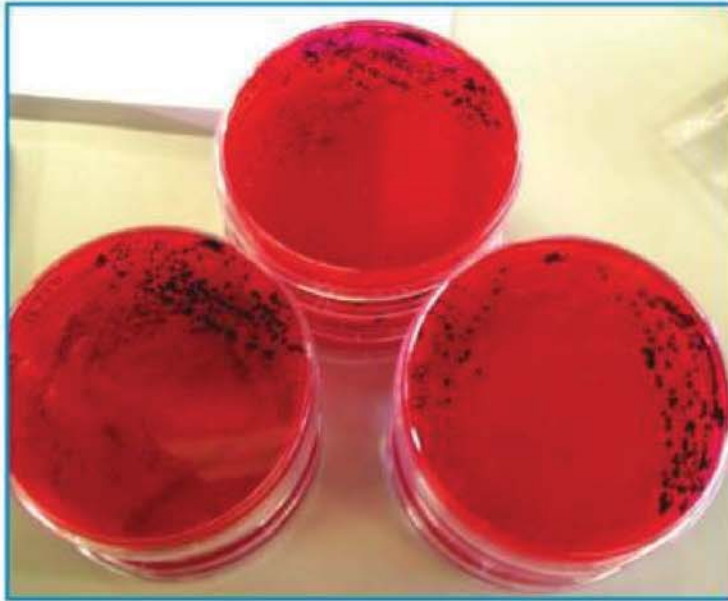
SIAG Sevilla

8-11 de mayo 2012

Salón Internacional de la Avicultura & Ganadería

www.silag.info





dos (Hiller et al., 2011; Vico y Mainar-Jaime, 2011). La posibilidad de reacciones cruzadas con otras bacterias Gram negativas frecuentes en porcino (p. ej. *Yersinia enterocolitica*) debido al antígeno utilizado también podría afectar al resultado de la prueba (Lo Fo Wong et al., 2003).

La interpretación correcta de un resultado depende además del punto de corte (valor de densidad óptica a partir del cual un resultado se considera positivo) elegido para una determinada prueba. La utilización de diferentes puntos cortes conlleva variaciones en la sensibilidad y especificidad de los ELISAs, de manera que el uso de puntos de cortes bajos aumenta la sensibilidad mientras que la especificidad disminuye (Harris et al., 2003). El punto de corte utilizado resulta así un factor clave a la hora de interpretar el resultado de estos ELISAs.

3. EL USO DE LA SEROLOGÍA COMO HERRAMIENTA COMPLEMENTARIA

La falta de una adecuada validación de estos ELISAs en muestras de campo, las discrepancias en los re-

sultados entre diferentes ELISAs, la falta de correlación entre seroprevalencia y prevalencia de infección y por lo tanto su limitada sensibilidad en programas de vigilancia, la necesidad de armonización de las diferentes pruebas antes de su aplicación, etc., dificultan la puesta en marcha de programas de control a gran escala basados en la serología. Por todo ello, la EFSA no recomienda HEIs basados en

estas técnicas, pero si sugiere que la serología podría utilizarse en las explotaciones como herramienta complementaria a las auditorías sanitarias para determinar el estado de salud del rebaño. Ahora bien, cabe preguntarse en qué medida la serología podría ser de utilidad en este contexto y cómo debería utilizarse.

Para poder dar respuesta a lo anterior debemos centrarnos en algunas de las ventajas de la serología como herramienta analítica, principalmente a las que tienen que ver con su rapidez, sencillez y reducido coste, tal como se ha comentado anteriormente. Estas ventajas permiten la posibilidad de realizar muestreos seriados de las explotaciones durante las diferentes etapas de la cadena de producción porcina y estimar el estado sanitario del rebaño en varios momentos. Los muestreos seriados pueden ayudar a determinar tendencias en la exposición de los rebaños a *Salmonella* spp. y, junto con la realización de adecuadas auditorías, contribuir a detectar determinadas características de la explotación, actividades o manejos que favorecen la diseminación de la infección. De esta manera la serología puede ayudar en la toma de decisio-

nes y la elección de estrategias tendentes a reducir esta exposición.

Hay una serie de factores que habrá que tener en cuenta a la hora de realizar estos muestreos seriados para garantizar que los resultados entre muestreos son comparables. Por ejemplo, será fundamental evitar la utilización de ELISAs diferentes, pues sabemos que pueden dar resultados dispares. Habrá que definir el tipo de muestra, en función de la facilidad para recogerla, y con el fin de evitar la variabilidad esperada entre suero y jugo de carne. Debemos seleccionar un punto de corte en función del ELISA utilizado, la situación epidemiológica esperada y nuestros objetivos particulares de reducción. Finalmente, habrá que considerar el número de animales a analizar, la selección aleatoria de los mismos (para que la muestra sea re-

presentativa), así como la frecuencia de los muestreos.

Los resultados obtenidos con el ELISA, es decir, el número de animales seropositivos (por encima del punto de corte seleccionado) y la distribución de esos resultados (de los valores de densidad óptica) permitirán evaluar a grosso modo la intensidad de la exposición a Salmonella, es decir, una valoración de su circulación en el lote analizado. Por ejemplo, un alto número de animales seropositivos que presentan a su vez valores de densidad óptica muy altos podría sugerir una infección activa en la explotación.

Una auditoría previa de la explotación permitirá identificar aquellas actividades, prácticas o factores que pueden estar favoreciendo la introducción y dispersión de la salmonelosis en la

Por primera vez, Seguridad Alimentaria a la medida de su empresa

Somos un equipo de investigadores y profesionales del sector y de otros ámbitos para ofrecerle **servicios especializados en Seguridad Alimentaria**.

Formación

Cursos 100% bonificables.
Modalidades semipresencial u online

Promoción

Soluciones a medida para vender sus productos o servicios

Control

Prepárese para los planes de control de la salmonelosis porcina:

- Ensayos de campo
- Auditorías sanitarias



AGROGESTIIC

Contáctenos y verá todo lo que podemos hacer para su negocio.

info@agrogestiic.es

www.agrogestiic.es

Síguenos en 

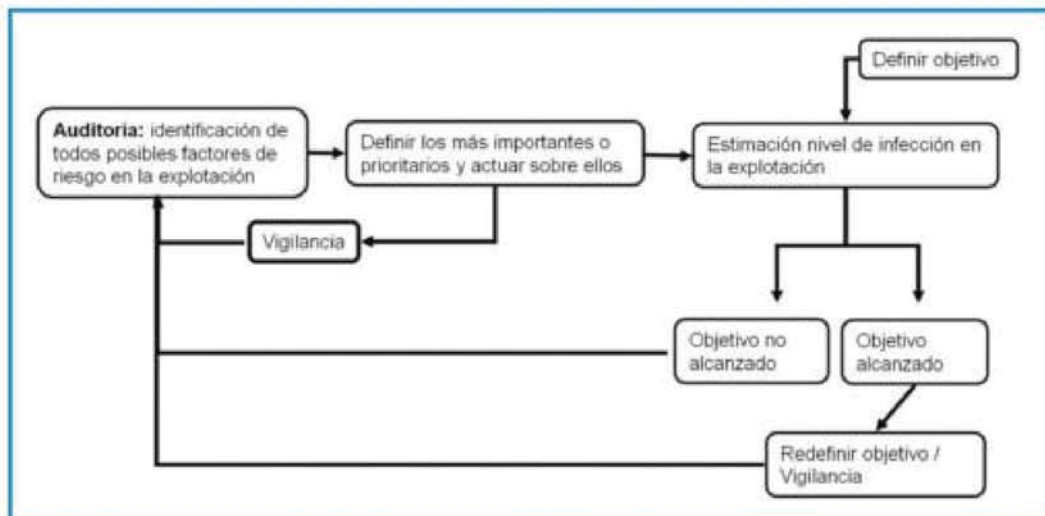


Figura 1. Esquema general de un posible programa de control.

explotación. Si los resultados de la serología sugieren una situación desfavorable habrá que evaluar las posibilidades de actuación sobre alguno de los factores de riesgo previamente identificados en la auditoría.

Un posible plan de control a seguir en una explotación porcina se presenta en la Figura 1. Un primer paso es identificar mediante técnicas de auditoría los potenciales factores de riesgo de salmonelosis en la granja y actuar sobre aquellos considerados prioritarios (en función de su importancia, coste económico, facilidad para controlarlos, etc.), manteniendo posteriormente una vigilancia constante para garantizar que esos factores estén siempre bajo control. Como medida complementaria la serología permitirá estimar si los niveles de infección (seroprevalencia) disminuyen tras esas actuaciones o se mantienen dentro de los límites aceptables. Si a pesar de las actuaciones realizadas la seroprevalencia se mantiene por encima de los objetivos definidos se actuará sobre nuevos factores de riesgo o alguno de los previamente identificados pero no corregidos. Más detalles sobre cómo desarrollar un programa de control de salmonelosis en las explotaciones se pueden encontrar en la página web del

Departamento de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente del Gobierno de Aragón.

En conclusión, aunque la serología presenta una serie de desventajas que la alejan de ser una técnica ideal como indicador epidemiológico armonizado en programas de control a gran escala, puede ser de gran ayuda a nivel de explotación para complementar la realización de auditorías sanitarias. Para ello habrá que conocer las características diagnósticas del ELISA que se pretende utilizar para poder interpretar adecuadamente los resultados y garantizar su comparabilidad entre muestreos.

REFERENCIAS

- BOYEN F, HAESBROUCK F, MAES D, VAN IMMERSEEL F, DUCATELLE R, PASMANS F. 2008. Non-typhoidal Salmonella infections in pigs: a closer look at epidemiology, pathogenesis and control. *Vet Microbiol* 130: 1-19.
- EFSA. 2008. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in slaughter pigs. Part B. *The EFSA Journal*: 1-111.
- EFSA. 2011. Scientific Report on Technical specifications on harmonised epidemiological indicators for public health hazards to be covered by meat inspection of swine. *EFSA Journal* 2011,9(10):2371 [125 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2011.2371
- FARZAN A, FRIENDSHIP RM, DEWEY CE. 2007. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tests and culture for determining Salmonella status of a pig herd. *Epidemiol*

Infect 135: 238-244.

FUNK JA, HARRIS IT, DAVIES PR. 2005. Comparison of fecal culture and Danish Mix-ELISA for determination of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* prevalence in growing swine. *Vet Microbiol* 107: 115-126.

HARRIS IT. 2003. Serologic basis for assessment of subclinical *Salmonella* infection in swine: Part 1 and 2. *J Swine Health Prod* 11: 247-251.

HILLER AS-A, G., KLEIN, G., HERES, L. 2011. Meat Juice serology underestimates prevalence of *Salmonella* in pig herds. *SAFEPORK*. Maastricht, Holanda, pp. 269-272.

LO FO WONG DM, DAHL J, VAN DER WOLF PJ, WINGSTRAND A, LEONTIDES L, VON ALTROCK A. 2003. Recovery of *Salmonella enterica* from seropositive finishing pig herds. *Vet Microbiol* 97: 201-214.

MAINAR-JAIME RC, ATASHPARVAR N, CHIRINO-TREJO M, BLASCO JM. 2008. Accuracy of two commercial enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibodies to *Salmonella* spp. in slaughter pigs from Canada. *Prev Vet Med* 85: 41-51.

MEJIA W, CASAL J, MATEU E, MARTIN M. 2005. Comparison of two commercial ELISAs for the serological diagnosis of salmonellosis in pigs. *Vet Rec* 157: 47-48.

MORENO SWITT, AI., SOYER, Y., WARNICK, LD., AND WIEDMANN, M. 2009. Emergence, Distribution, and Molecular and Phenotypic Characteristics of *Salmonella enterica* Serotype 4,5,12:1-. *Foodborne Pathogens and Disease* 6(4): 407-415.

NIELSEN B, BAGGESEN D, BAGER F, HAUGEGAARD J, LIND P. 1995. The serological response to

Salmonella serovars typhimurium and infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations. *Vet Microbiol* 47: 205-218.

NOLLET N, MAES D, DUCHATEAU L, HAUTEKIET V, HOUF K, VAN HOOFF J, DE ZUTTERA L, DE KRUIF A, GEERS R. 2005. Discrepancies between the isolation of *Salmonella* from mesenteric lymph nodes and the results of serological screening in slaughter pigs. *Vet Res* 36: 545-555.

PIRES SM, DE KNEGT, L., AND HALD, T. 2011. Estimation of the relative contribution of different food and animal sources to human *Salmonella* infections in the European Union. *The EFSA Journal*. Pgs

POULIN MC, DONADEU M, MACKAY EK, PENMAN KL, THOMSON JR. 2010. Comparative study of three porcine *Salmonella* ELISAs. *Vet Rec* 166: 500-501.

SCHERER K, SZABO I, ROSLER U, APPEL B, HENSEL A, NOCKLER K. 2008. Time course of infection with *Salmonella typhimurium* and its influence on fecal shedding, distribution in inner organs, and antibody response in fattening pigs. *J Food Prot* 71: 699-705.

VICO, J. P., ENGEL, B., BUIST, W. G., Y. MAINAR-JAIME, R. C. 2010. Evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibodies against *Salmonella* spp. in meat juice from finishing pigs in Spain. *Zoon & Pub Health* 57 Suppl 1:107-14.

VICO, J. P., Y MAINAR-JAIME, R. C. 2011. The use of meat juice or blood serum for the diagnosis of *Salmonella* infection in pigs and its possible implications on *Salmonella* control programs. *J Vet Diagn Invest* 23:528-31.

PORCILIS PRRS

Vacuna viva atenuada contra la infección con virus PRRS. Utilizada y disolvente para suspensión inyectable. Vía intramuscular o intradérmica.

COMPOSICIÓN POR DOSIS (2 ml [administración intramuscular] o 0,2 ml [administración intradérmica] de vacuna reconstituida): Fracción liofilizada: Sustancia activa: Virus PRRS cepa DV vivo atenuado: 104,0 – 106,3 TCID50*. Fracción disolvente: Adyuvante: acetato de di- α -tocoferilo: 75 mg/ml. *Dosis infectiva de cultivo tisular 50%.

INDICACIONES Y ESPECIES DE DESTINO: Porcina: Inmunización activa de cerdos clínicamente sanos en un ambiente contaminado con virus de PRRS para reducir la viremia causada por la infección con cepas europeas del virus PRRS.

CONTRAINDICACIONES: No usar en explotaciones donde la prevalencia de virus de PRRS europeo no haya sido establecida mediante métodos de diagnóstico fiables.

PRECAUCIONES: Porcilis PRRS debe utilizarse solamente en explotaciones contaminadas con virus de PRRS, donde se haya establecido la prevalencia de virus de PRRS europeo mediante métodos de diagnóstico fiables. No se dispone de datos sobre la seguridad de la vacuna para el rendimiento reproductivo en verracos. No utilizar en explotaciones en las que se haya adoptado un programa de erradicación de PRRS basado en la serología. Deben tomarse precauciones para evitar la introducción de la cepa vacunal en un área en la que no esté presente el virus de PRRS. El virus vacunal puede transmitirse a cerdos en contacto durante 3 semanas después de la vacunación. La vía de transmisión más común es el contacto directo, pero no puede excluirse la transmisión a través de objetos contaminados o a través del aire. Deben tomarse precauciones para evitar la transmisión del virus vacunal de animales vacunados a animales no vacunados (es decir, cerdas gestantes sin inmunidad) que deben permanecer libres de virus de PRRS. No utilizar en verracos donantes de semen para explotaciones seronegativas, puesto que el virus de PRRS puede ser excretado en el semen durante muchas semanas. En caso de autoinyección accidental, consulte con un médico inmediatamente y muéstrela el prospecto o la etiqueta.

Las cerdas adultas y nulíparas sin inmunidad frente a virus de PRRS no deben ser vacunadas durante la gestación, puesto que esto puede tener efectos negativos. La vacunación durante la gestación es segura cuando se lleva a cabo en cerdas adultas y nulíparas ya inmunizadas frente al virus de PRRS europeo mediante la vacunación a por infección de campo. La vacuna puede ser utilizada durante la lactancia.

Utilizar jeringas y agujas estériles o un equipo intradérmico limpio.

Existe información disponible sobre la seguridad y la eficacia de la inyección intramuscular en cerdos de ceba a partir de 4 semanas, que demuestran que esta vacuna puede mezclarse con Porcilis M Hyo. Se debe consultar también la información sobre el medicamento Porcilis M Hyo antes de la administración de los medicamentos mezclados. No existe información disponible sobre la seguridad y la eficacia del uso de esta vacuna con cualquier otro medicamento veterinario excepto el medicamento mencionado anteriormente. La decisión sobre el uso de esta vacuna antes o después de la administración de cualquier otro medicamento veterinario se deberá realizar caso por caso. No existe información disponible sobre la seguridad y la eficacia del uso de Porcilis PRRS mezclado con Porcilis M Hyo en animales destinados a la cría o durante la gestación. No mezclar con ningún otro medicamento veterinario, excepto el disolvente suministrado con el medicamento o con Porcilis M Hyo.

Precauciones especiales de conservación: Fracción liofilizada o caja combinada: conservar en nevera (entre 2°C y 8°C). Proteger de la luz. Fracción disolvente: conservar a temperatura inferior a 25°C.

TIEMPO DE ESPERA: Cero días.

Uso: Veterinario - medicamento sujeto a prescripción veterinaria.

Instrucciones completas en el prospecto.

Mantener fuera del alcance y la vista de los niños.

Formatos: Formatos para administración por vía intradérmica: Caja con 3 viales de 100 dosis de liofilizado y 5 viales de PET de 20 ml de disolvente. Formatos para administración por vía intramuscular: Caja con una caja de 10 viales de 25 dosis de liofilizado y 10 viales de PET de 50 ml de disolvente, caja con una caja de 10 viales de 50 dosis de liofilizado y 10 viales de PET de 100 ml de disolvente, caja con una caja de 10 viales de 100 dosis de liofilizado y 10 viales de PET de 200 ml de disolvente.

FICHA TÉCNICA