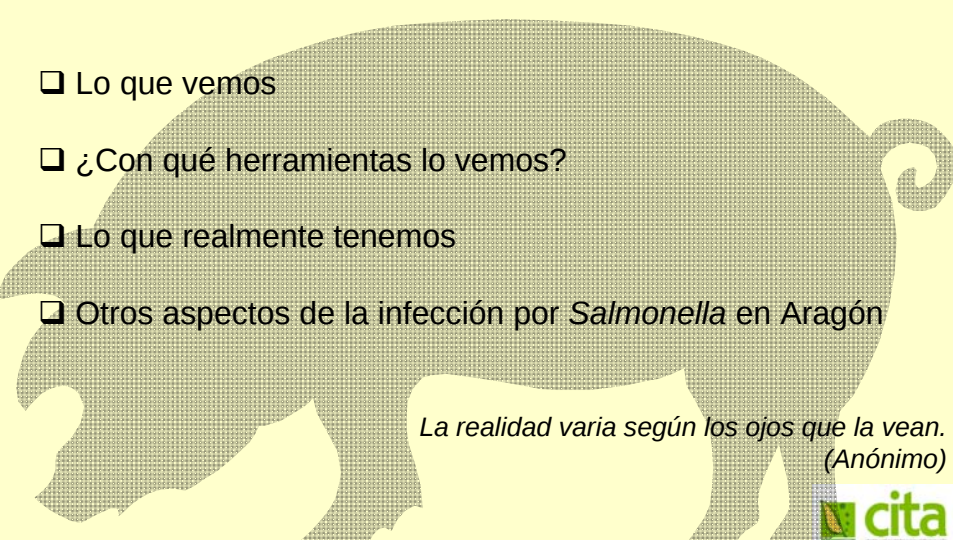




Salmonelosis en explotaciones porcinas

- ☐ Lo que vemos
- ☐ ¿Con qué herramientas lo vemos?
- ☐ Lo que realmente tenemos
- ☐ Otros aspectos de la infección por *Salmonella* en Aragón

*La realidad varia según los ojos que la vean.
(Anónimo)*



Salmonelosis porcina: evaluación de métodos de diagnóstico, situación epidemiológica y recomendaciones para la futura implantación de programas de vigilancia y control en España
(INIA RTA2007 – 065)

Objetivos

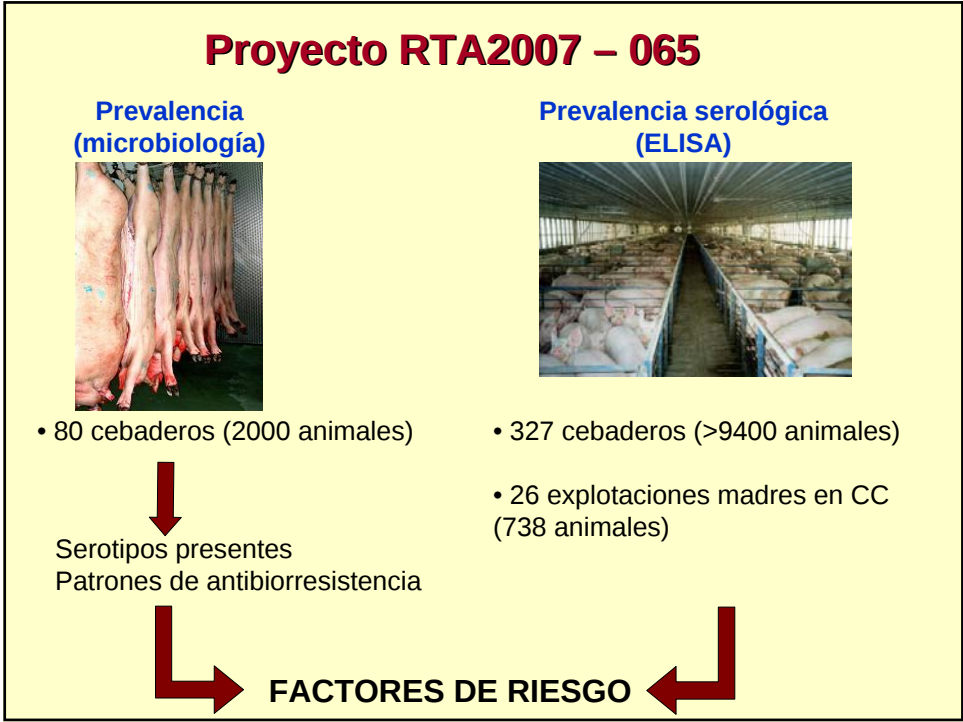
1. Evaluación de diversas técnicas de diagnóstico directo e indirecto para su uso en programas de vigilancia y control de la salmonelosis porcina.
2. Estimación de la prevalencia y seroprevalencia de salmonelosis en cebaderos porcinos de Aragón.
3. Identificar los principales factores asociados con la presencia/exposición de/a *Salmonella* spp en cebaderos.
4. Determinar perfiles de resistencias antibióticas en las cepas de *Salmonella* aisladas y de posibles factores de riesgo asociados.



Antes de empezar...

- **Portadores activos:** infectados (recientemente o reactivación) y eliminadores de *Salmonella* spp.
- **Portadores silentes:** sin bacterias en el intestino pero presentes en ganglios linfáticos. Pueden excretar bacterias (estrés).
- **Portadores pasivos:** *Salmonella* está presente en las heces pero no existe infección. Serán animales negativos en caso de retirarlos del ambiente contaminado.
- **Presencia de anticuerpos:** = exposición a *Salmonella* spp.
≠ infección actual.

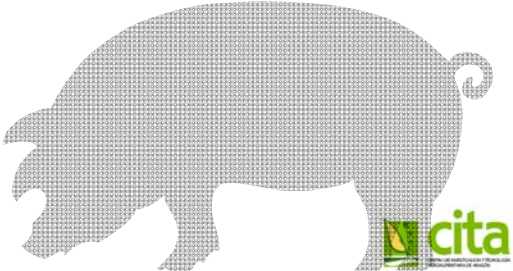


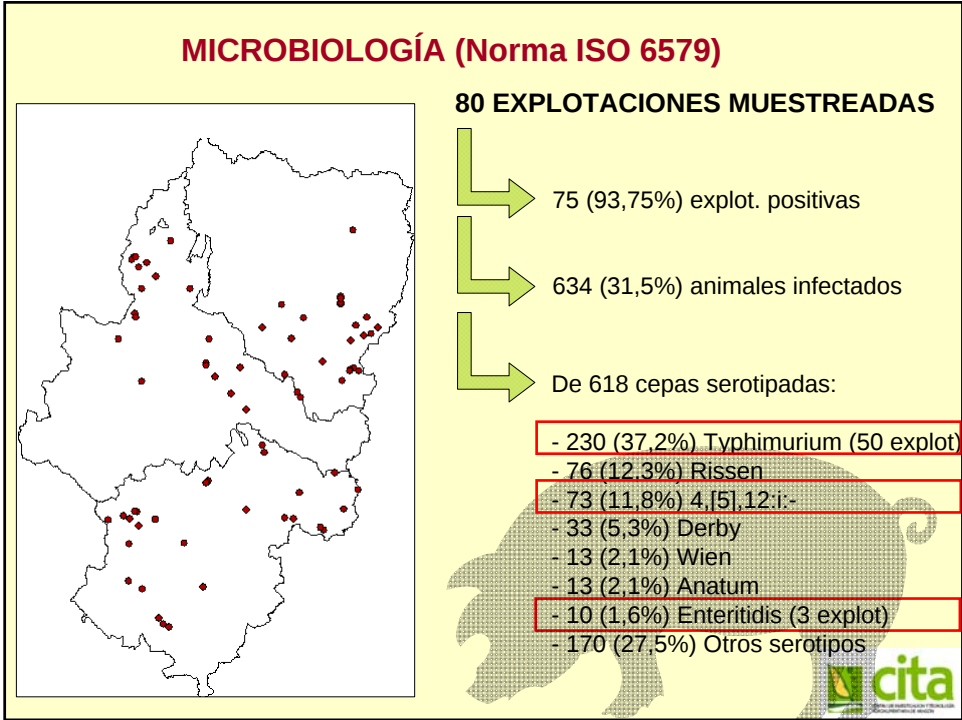
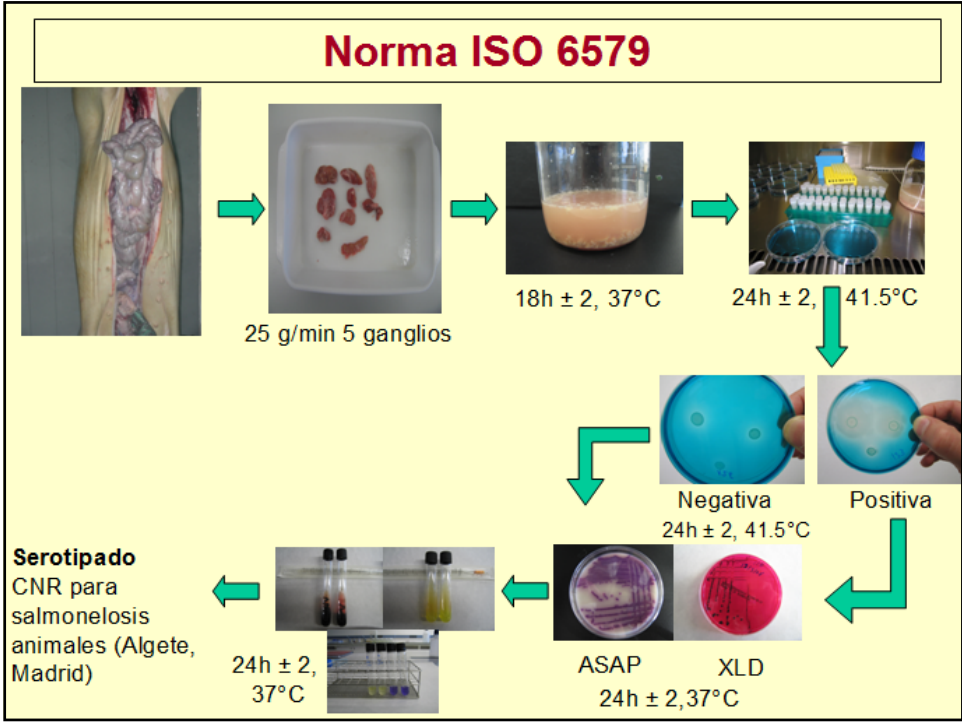


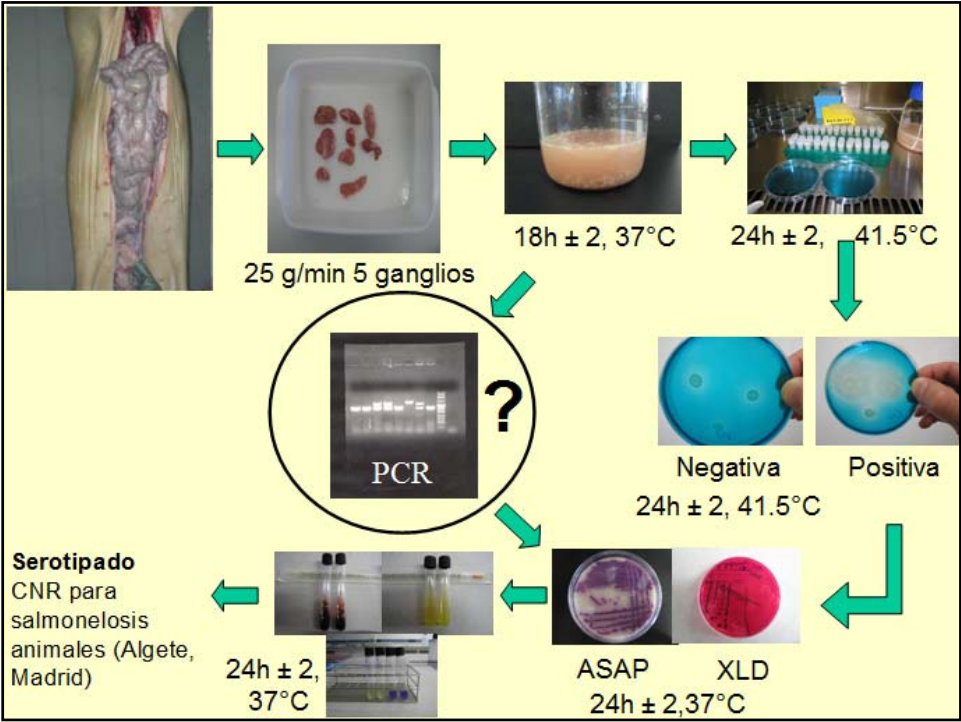
MICROBIOLOGÍA

• **Norma ISO 6579 (UE)**

**Ganglios
linfáticos
mesentéricos**







PCR VS MICROBIOLOGÍA

Muestras: 348 muestras BPW congeladas de origen porcino

- A** Aislamiento microbiológico según normativa vigente (ISO 6579)
- B** Detección molecular:
- Extracción DNA (Boiling 1 mL BPW) → PCR → Gel de agarosa (genes *invA*, *hilA*, *spvA* y *spvC*)

	PCR +	PCR -	
C+	92	14	106
C-	47	195	242
	139	209	348

17 C+



PCR VS MICROBIOLOGÍA

Sensibilidad (Se) cultivo: prob. de obtener un resultado + si el animal está infectado.

- Tipo de muestra (heces vs ganglios)
- Cantidad de muestra utilizada (1g / 10g / 25g)
- Grado de homogenización
- Individual vs *pool*
- Combinación de medios utilizados para el cultivo.

¿Se de la ISO 6579?

Prueba	Se(%) (IC95%)	Es(%) (ICr95%)
Cultivo	72 (64 – 79)	1
PCR	88 (83 - 91)	95 (91 – 97)

- Prevalencia observada: 31,5%
- **Prevalencia real: 43,75%**
- Mínima prevalencia detectada en el rebaño: 16% → 100% reb. infectados

Análisis Bayesiano

OTROS RESULTADOS EN ESPAÑA

REBAÑOS POSITIVOS

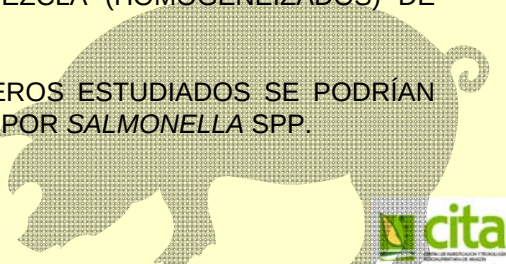
- UE (2008): 64% (madres/heces/*pool*).
- Andalucía (Astorga, 2007): 1,8% (cebo/hisopado ganglios/individual)
3,5% (cebo/10g heces/individual)
- Cataluña (Mejía, 2003): 24,3% (madres/25g heces/individual).
20,3% (cebadero/25g heces/*pool*).
- España (García-Feliz, 2007): 43,1% (cebadero/25g heces/*pool*).
 - Aragón: 46,6% (cebadero/25g heces/*pool*).
 - Cataluña: 53% (cebadero/25g heces/*pool*).

ANIMALES POSITIVOS

- UE (2007): 29% (ganglios/individual).

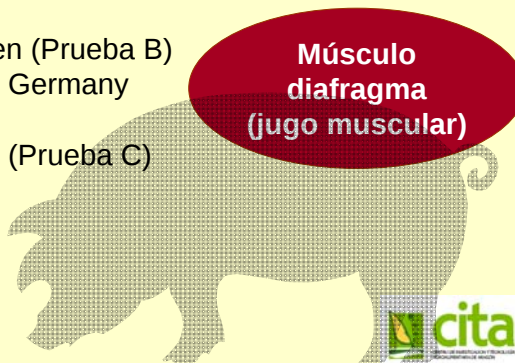
A TENER EN CUENTA ...

- LA PREVALENCIA DE SALMONELOSIS PORCINA ES PROBABLEMENTE BASTANTE SUPERIOR A LO PUBLICADO HASTA AHORA DEBIDO A LA FALTA DE SENSIBILIDAD DEL CULTIVO MIROBIOLÓGICO.
- ESTE ERROR ES SEGURAMENTE MAYOR CUANDO SE TRABAJA A PARTIR DE MEZCLA (HOMOGENEIZADOS) DE HECES.
- EL 100% DE LOS CEBADEROS ESTUDIADOS SE PODRÍAN CONSIDERAR INFECTADOS POR *SALMONELLA* SPP.



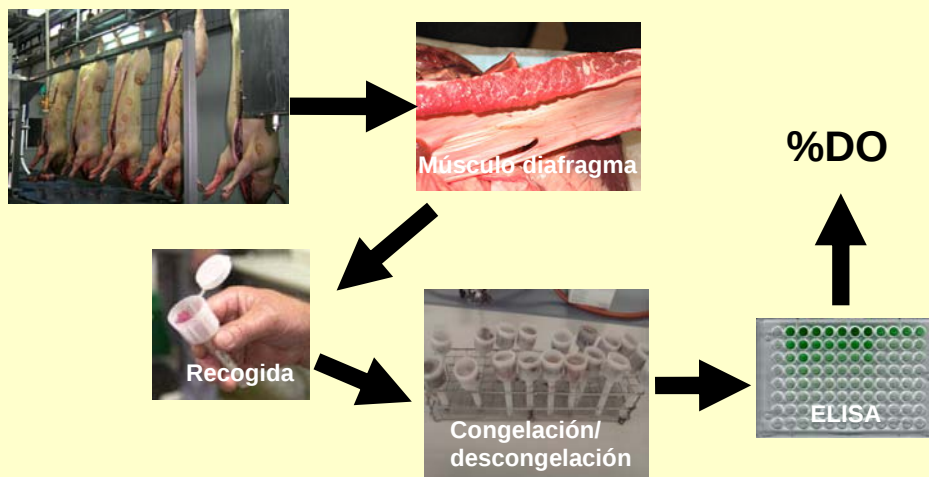
SEROLOGÍA (ELISAS)

- Herdcheck® Swine *Salmonella* (Prueba A)
Idexx Laboratories, USA
- SALMOTYPE® Pig Screen (Prueba B)
Labor Diagnostik Leipzig, Germany
- PrioCHECK® *Salmonella* (Prueba C)
Prionics, Switzerland



SEROLOGÍA (ELISAS)

Obtención de jugo muscular para detección de Ac frente a *Salmonella* spp.



ANÁLISIS DATOS

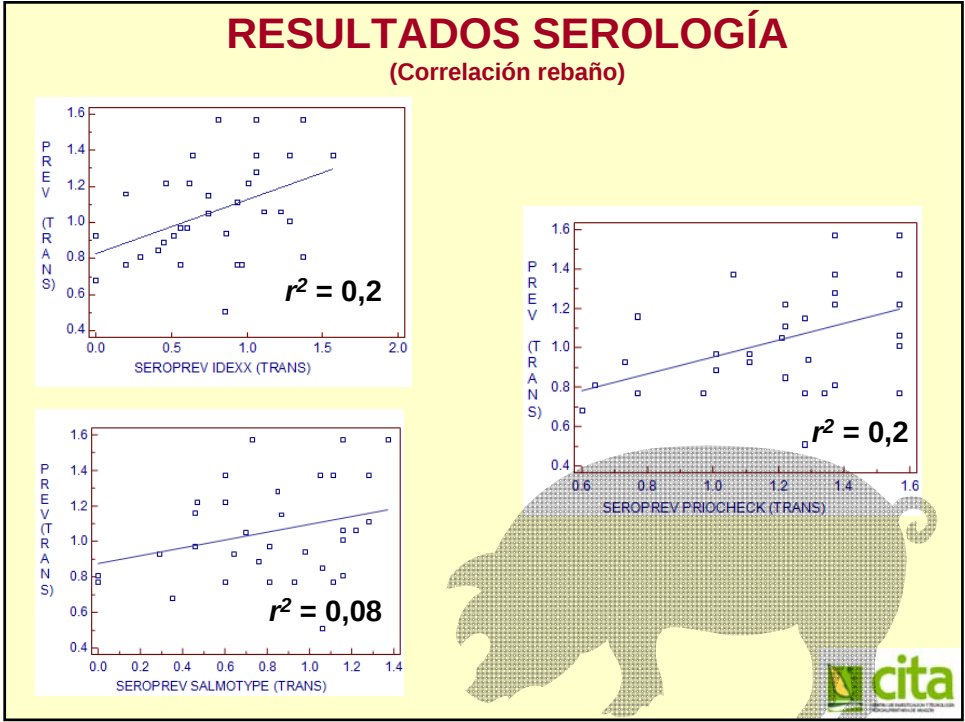
1. Sensibilidad (rSe) y Especificidad (rEs) relativas con respecto a la bacteriología.
2. Nivel de concordancia entre pruebas (Kappa -K-).
3. Correlación entre prevalencia (microbiología) y seroprevalencia de rebaño (coeficiente de Pearson).
4. Se y Es en ausencia de un "gold standard" (análisis Bayesianos).



Serotipos supuestamente detectables por los ELISAs

Serotipo	Serogrupo	Nº infectados	A	B	C
Typhimurium	B	91	67	57	30
4,[5]12:i:-	B	14	9	12	3
Wien	B	11	5	7	1
Other	B	3	2	1	0
Rissen	C1	29	19	15	11
Mikawasima	C1	5	2	4	0
Other	C1	6	4	5	3
Newport	C2	5	1	1	0
Goldcoast	C2	5	0	0	0
Muenchen	C2	3	1	2	0
Enteritidis	D1	9	7	3	2
Kapemba	D1	8	7	4	0
Havana	G2	5	3	1	0
TOTAL		194	127 (65%)	112 (58%)	50 (26%)

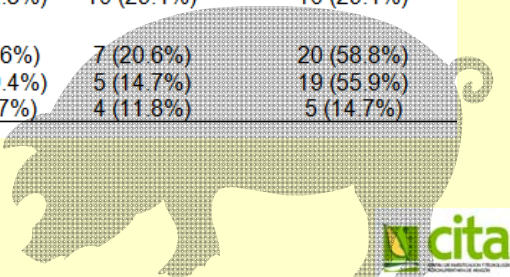
Serotipos supuestamente no detectables por los ELISAs					
Serotipo	Serogrupo	Nº infectados	A	B	C
London	E1	9	9	9	5
Give	E1	4	4	3	2
Anatum	E1	2	2	2	2
Other	E1	4	2	1	1
Szentes	I	5	0	0	0
Gaminara	I	1	1	1	1
Toulon	K	2	0	0	0
Arizonae	Y	14	10	5	1
TOTAL		41	28 (68%)	21 (51%)	12 (29%)



SEROLOGÍA (clasificación rebaños)

Tabla 4. Número y porcentaje de rebaños según su estado sanitario basado en el número de animales considerados positivos de acuerdo con las diferentes pruebas utilizadas.

Método de diagnóstico	Rebaño Negativo	Estado Sanitario del Rebaño		
		Animales positivos ≤20%	Animales positivos >20% y ≤40%	Animales positivos >40%
Bacteriología	3 (8.8%)	11 (32.3%)	10 (29.4%)	10 (29.4%)
Serología				
IDEXX	0 (0%)	7 (20.6%)	7 (20.6%)	20 (58.8%)
SALMOTYPE	0 (0%)	10 (29.4%)	5 (14.7%)	19 (55.9%)
PRIONICS	9 (26.5%)	16 (47%)	4 (11.8%)	5 (14.7%)

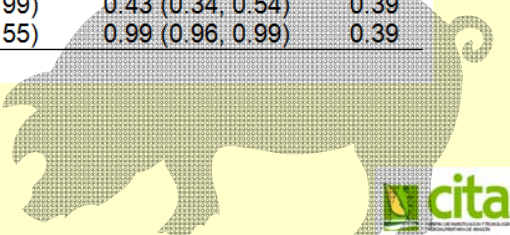


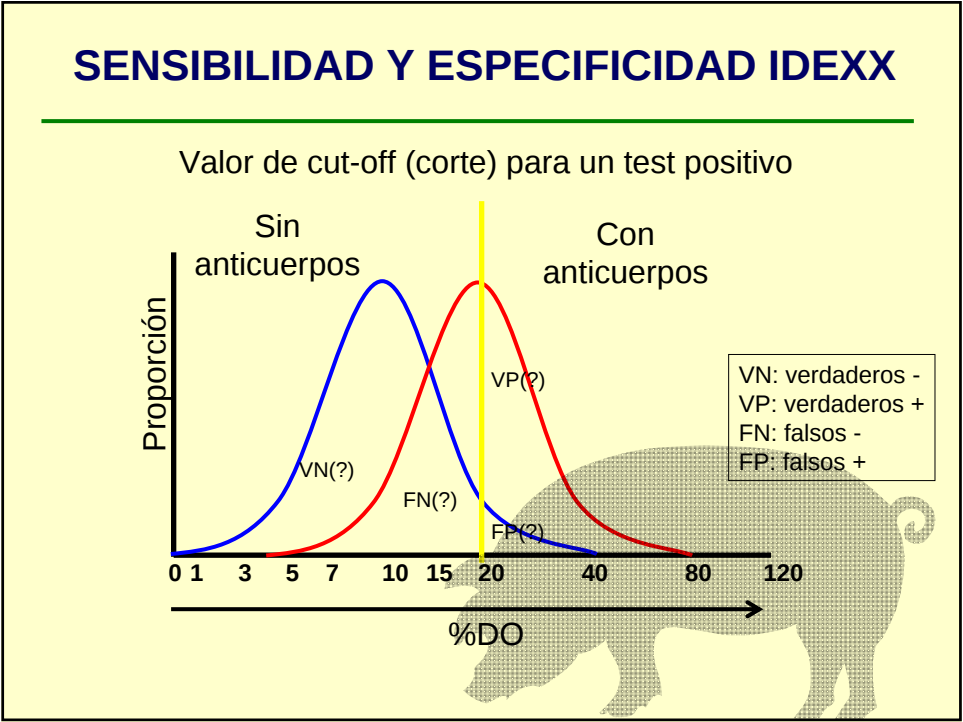
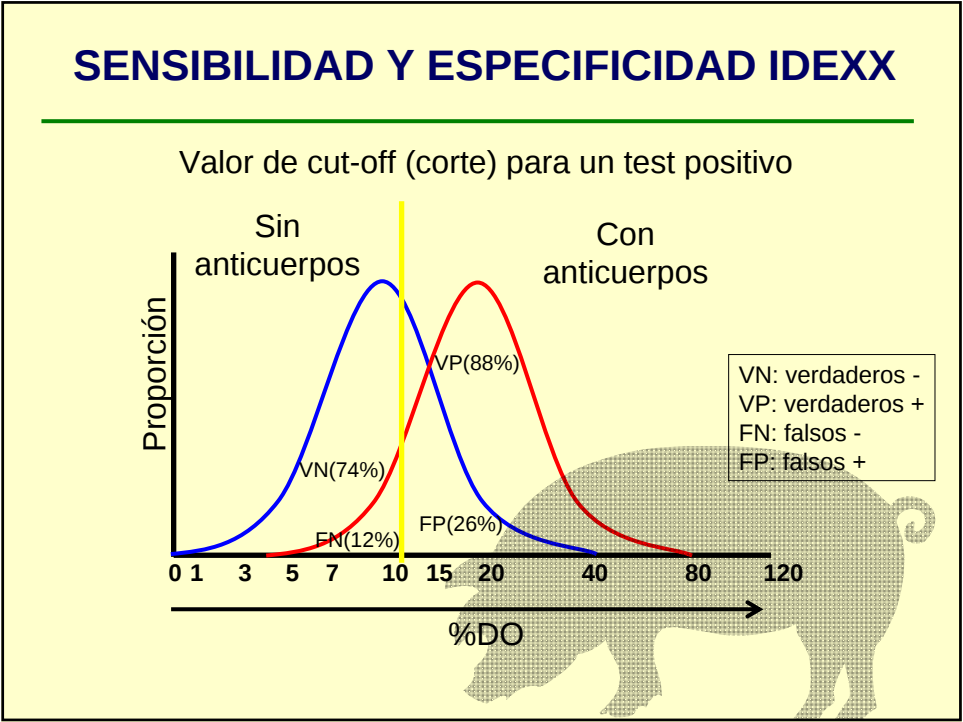
SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

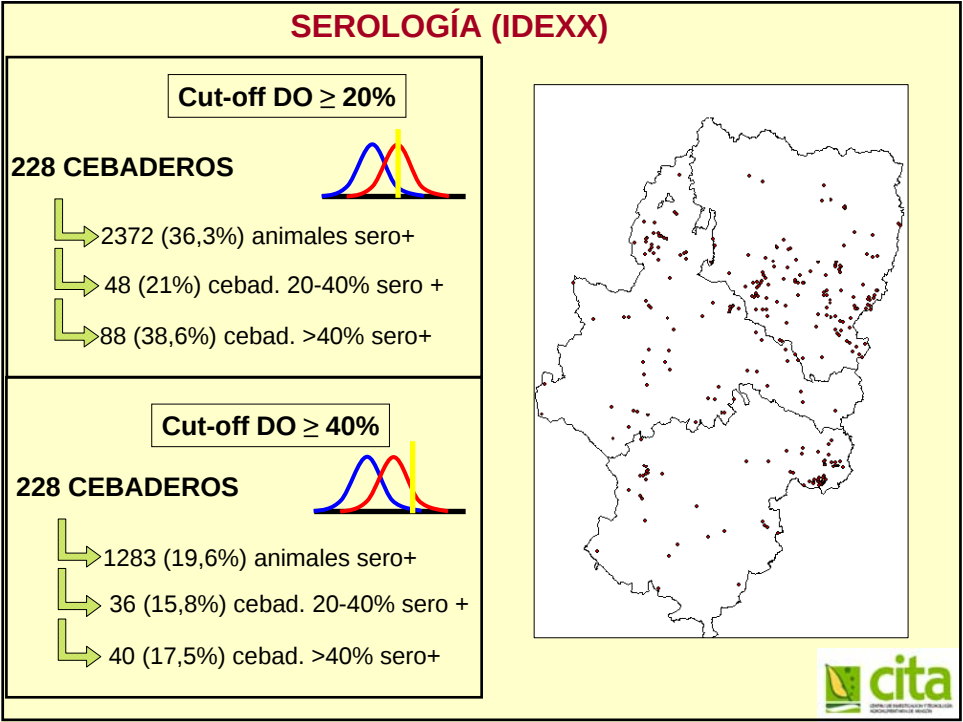
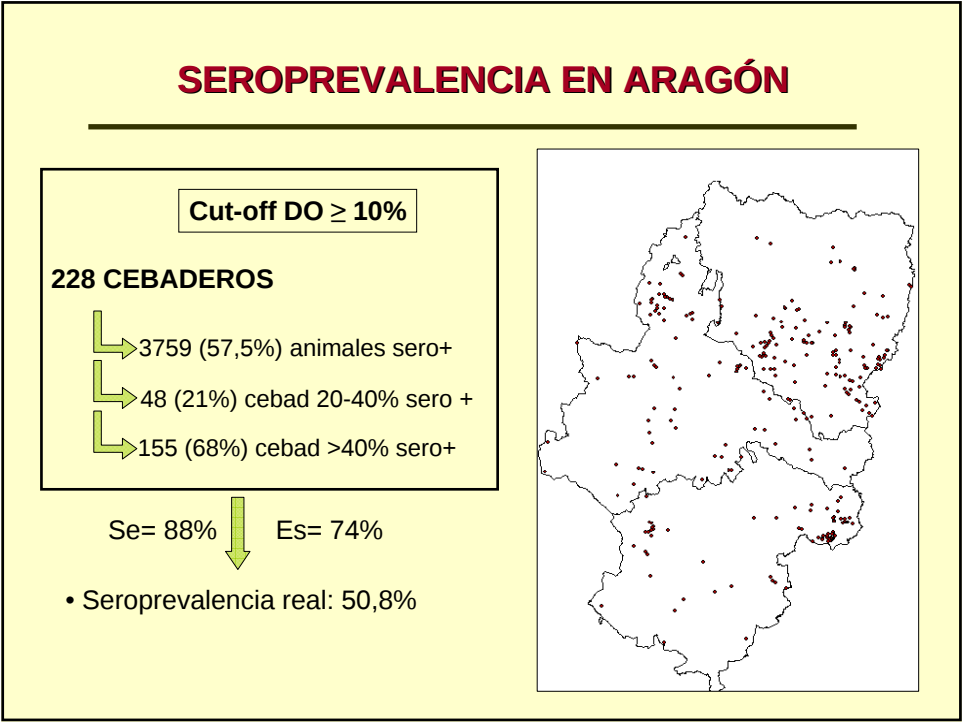
Tabla 7. Estimados (medianas) e Intervalos de Credibilidad del 95% (ICr95%) para la sensibilidad (Se) y especificidad (Sp) y el índice de Youden (J) de las tres pruebas de ELISA analizadas para el diagnóstico de la salmonelosis porcina sobre muestras de jugo muscular.

ELISA	Se (ICr95%)	Es (ICr95%)	J*
IDEXX	0.88 (0.68, 0.92)	0.74 (0.64, 0.91)	0.62
SALMOTYPE	0.96 (0.81, 0.99)	0.43 (0.34, 0.54)	0.39
PRIONICS	0.40 (0.28, 0.55)	0.99 (0.96, 0.99)	0.39

*J=Se+Sp-1







OTROS RESULTADOS EN ESPAÑA

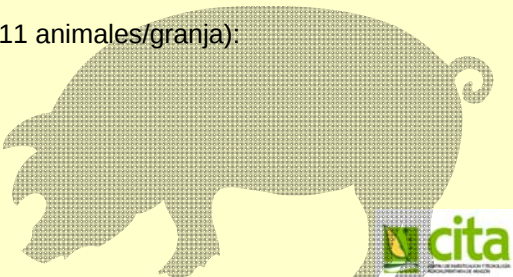
CATALUÑA

Comarca de Osona, 2007 (201 granjas, IDEXX cut-off DO $\geq$ 20%, 11 animales/granja):

- 87,6% granjas positivas.
- Seroprevalencia media: 41,5%.

ANDALUCÍA 2007 (44 granjas, 11 animales/granja):

- 75% granjas positivas.



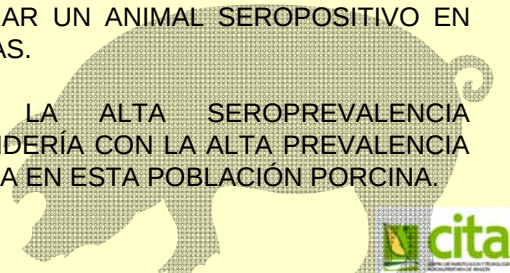
COMARCA	Nº ANIM	Nº EXPLOT	% MUESTREADO	SEROPREV (%)
SOBRARBE	30	1	0.44	13.33
ALTO GALLEGO	31	1	0.44	22.58
RIBERA BAJA DEL EBRO	25	1	0.44	28.00
LA RIBAGORZA	204	7	3.07	32.84
COMUNIDAD DE TERUEL	125	5	2.19	47.20
BAJO ARAGON	82	3	1.32	47.56
CINCO VILLAS	725	24	10.53	49.10
MATARRAÑA	1116	39	17.11	51.97
LA LITERA	456	16	7.02	52.85
HOYA DE HUESCA	345	12	5.26	53.33
DAROCA	109	4	1.75	55.05
CINCA MEDIO	428	15	6.58	55.14
BAJO CINCA	327	12	5.26	58.72
SOMONTANO DE BARBASTRO	323	11	4.82	61.92
BELCHITE	118	4	1.75	62.71
LOS MONEGROS	875	30	13.16	63.09
VALDEJALON	120	4	1.75	65.00
CARIÑENA	120	4	1.75	67.50
RIBERA ALTA DEL EBRO	60	2	0.88	70.00
JILOCA	372	13	5.70	71.77
DC ZARAGOZA	88	3	1.32	72.73
CALATAYUD	120	4	1.75	73.33
SIERRA DE ALBARRACIN	29	1	0.44	75.86
BORJA	60	2	0.88	76.67
BAJO MARTIN	26	1	0.44	80.77
MAESTRAZGO	80	4	1.75	82.50
BAJO ARAGON-CASPE	60	2	0.88	85.00
GUDAR-JAVALAMBRE	22	1	0.44	86.36
ANDORRA-SIERRA DE ARCOS	30	1	0.44	93.33
TARAZONA Y EL MONCAYO	30	1	0.44	93.33
TOTAL:	6536	228		

SEROPREVALENCIA EN ARAGÓN (2008)
(cut-off DO $\geq$ 10%)

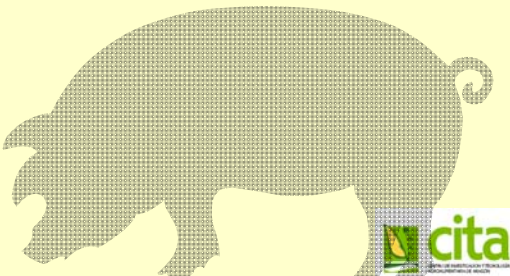
A map of the region of Aragón, Spain, with numerous small red dots indicating the locations of sampling points across the region.A stylized illustration of a pig in profile, facing left. The pig is composed of a grid of small squares. In the bottom right corner of the pig's body, there is a logo for 'cita' (Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón) which includes a green leaf icon and the text 'cita' in green.

MÁS IDEAS A CONSIDERAR ...

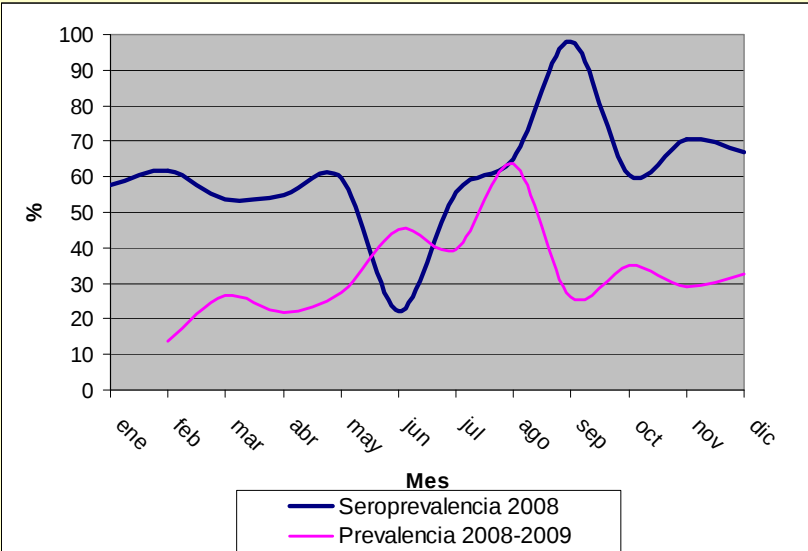
- LA PRECISIÓN DIAGNÓSTICA DE LOS ELISAS COMERCIALES ANALIZADOS FUE EN GENERAL MUY LIMITADA PARA SU USO EN LAS CONDICIONES DE LA POBLACIÓN PORCINA ESTUDIADA.
- EXISTEN GRANDES DIFERENCIAS ENTRE LOS RESULTADOS DE LOS DISTINTOS ELISAS QUE PUEDEN REPECURTIR EN LA CLASIFICACIÓN DEL ESTADO DE SALUD DE LOS REBAÑOS.
- CONVIENE DEFINIR CUAL SERÁ EL PUNTO DE CORTE MÁS ADECUADO PARA CONSIDERAR UN ANIMAL SEROPOSITIVO EN LAS CONDICIONES ESPAÑOLAS.
- EN CUALQUIER CASO LA ALTA SEROPREVALENCIA OBSERVADA SE CORRESPONDERÍA CON LA ALTA PREVALENCIA MICROBIOLÓGICA OBSERVADA EN ESTA POBLACIÓN PORCINA.



Otros aspectos de la infección por *Salmonella* spp. en cebaderos porcinos de Aragón ...



Evolución de la seroprevalencia (año 2008) y prevalencia (años 2008 y 2009 conjuntos) de salmonelosis porcina en Aragón (cut-off DO≥ 10%).

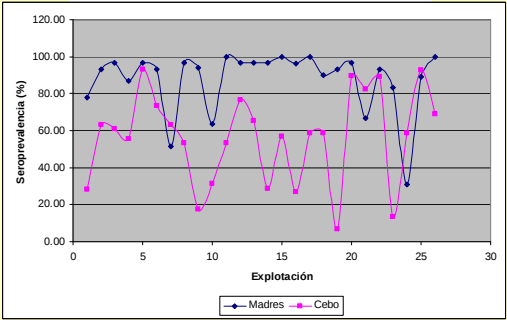
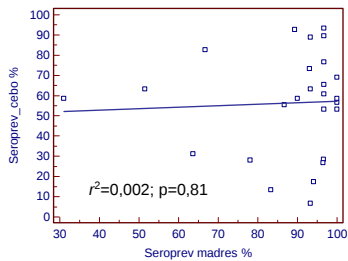


Evolución de la seroprevalencia en varias explotaciones muestreadas repetidamente (Cut-off DO≥ 10%)

Explotación	2008				2009	
	Inv	Pri	Ver	Oto	Inv	Pri
1	100.00	96.67	70.00			
2	20.00	15.38	70.37			
3	100.00	36.67		70.00		
4	50.00	10.00		36.67		
5	37.04	23.33		79.31		
6	70.00	44.00		80.00		
7	63.33	46.67		68.97		
8	31.03		13.33	32.14		
9	66.67		36.67	53.33		
10	100.00		100.00	80.00		
11	80.00		50.00		16.67	
12	46.67			86.67		0.00
13		80.00	73.33	90.00		
14		73.33		56.67	68.97	
15		13.33		56.67	30.00	
16			30.00	76.67		56.67
17			66.67	90.00		30.00
18			66.67		43.33	16.67
19			76.67		30.00	13.33
20				93.33	30.00	13.33
Promedio	63.73	43.94	59.43	70.03	36.49	21.67

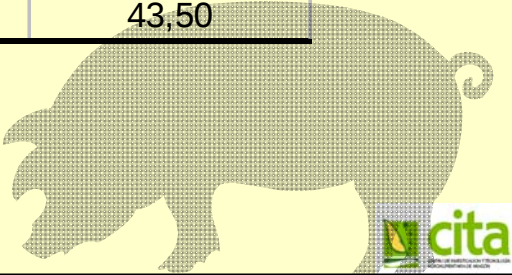
Relación entre seroprevalencia en madres y animales de
cebo en explotaciones de ciclo cerrado (cut-off DO≥ 10%)

IDEXP	Seroprev madres	Seroprev cebo
1	78.05	28.00
2	93.33	63.33
3	96.67	60.71
4	86.67	55.56
5	96.67	93.33
6	93.10	73.33
7	51.43	63.33
8	96.67	53.33
9	94.12	17.39
10	63.64	31.25
11	100.00	53.33
12	96.67	76.67
13	96.67	65.52
14	96.55	28.57
15	100.00	56.67
16	96.43	26.67
17	100.00	58.62
18	90.00	58.62
19	93.33	6.67
20	96.67	89.47
21	66.67	82.61
22	93.33	88.89
23	83.33	13.33
24	31.03	58.62
25	89.29	92.59
26	100.00	68.97
MEDIA	87.70	56.36

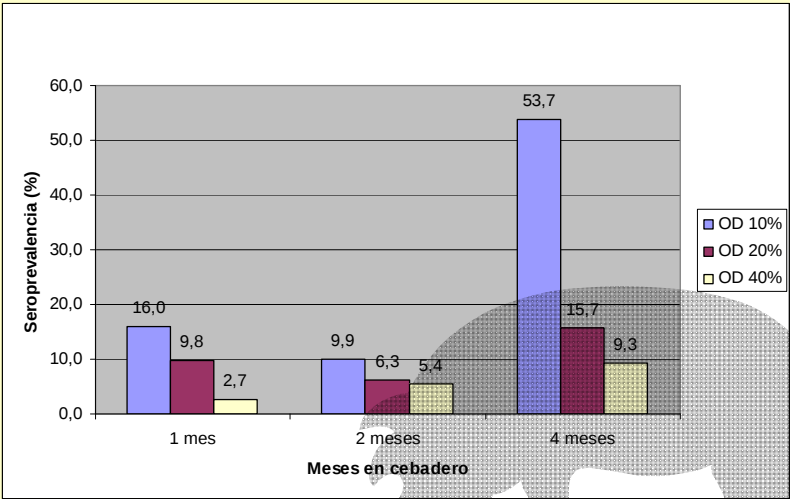


Relación entre el número de orígenes de los cerdos del
cebadero y prevalencia de *Salmonella* spp.(53 cebaderos)

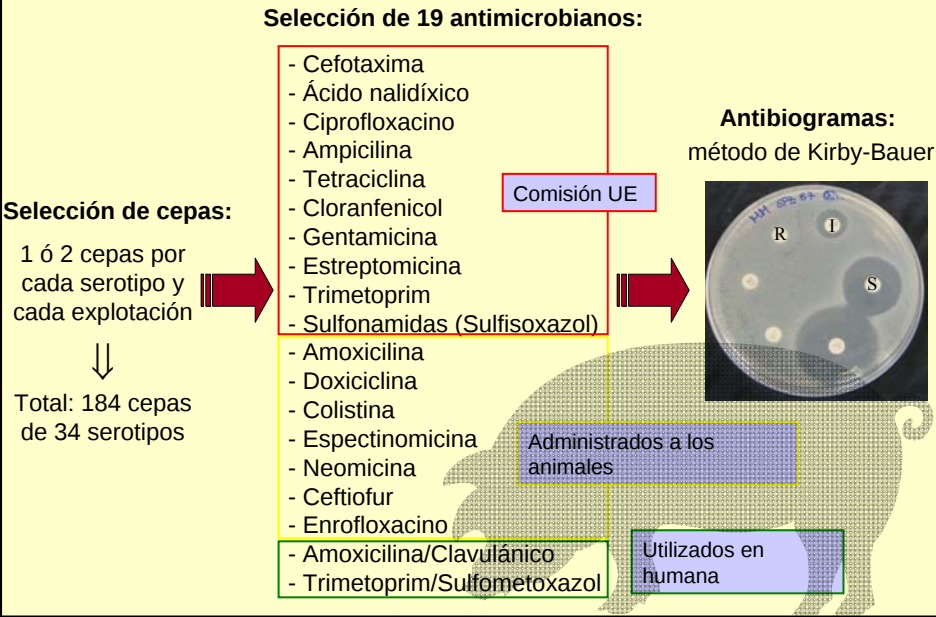
Nº orígenes	Prevalencia (%)
1	29,43
2	22,67
>2	43,50



Evolución de la seroprevalencia frente a *Salmonella* spp. en un cebadero comercial (ELISA IDEXX).

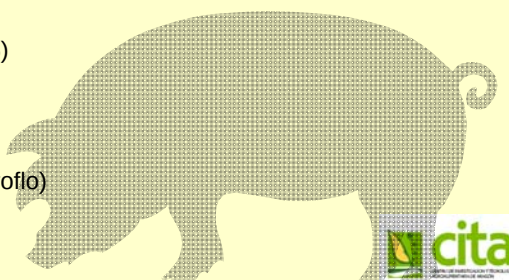


RESISTENCIAS ANTIMICROBIANAS



RESISTENCIAS ANTIMICROBIANAS

- **Cepas R:** 130 (70,6%)
Cepas I: 3 (1,6%)
Cepas S: 51 (27,7%)
- Mayor porcentaje de cepas resistentes a:
Tetraciclinas (60%) y **Sulfonamidas (54%)**
- **Cefalosporinas de 3ª generación:**
2 cepas R (1ª vez en España)
- **Genta y Neo:** baja frecuencia R (<6%)
- 100% cepas S a:
 - **Fluoroquinolonas** (Enroflo, Ciproflo)
 - **Polimixinas** (Colistina)



RESISTENCIAS ANTIMICROBIANAS

- **Multi-resistencia** (a 2 o más familias antimicrobianas) en:
 - 88% de las explotaciones
 - 59% de las cepas
 - 89% de las cepas serotipo Typhimurium
- Se identificaron **22 perfiles** de multi-resistencia diferentes
- Los más frecuentes: **ACSSuT±Na** (37 cepas) y **ASSuT±Na** (34 cepas)
- **Estadística:**
 - No hay relación entre perfiles multi-R **dentro de una misma explotación**
 - N° de cepas R inversamente proporcional a la **prevalencia:**
 - mayores en invierno-primavera que en verano-otoño ($p=0,056$)
 - mayores en la provincia de Zaragoza que en Huesca o Teruel



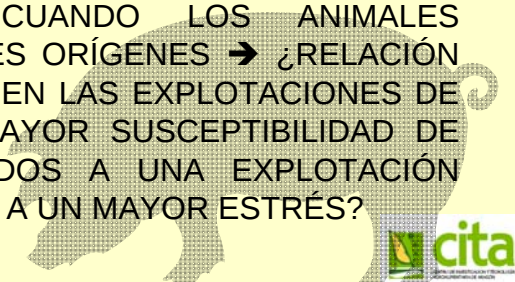
FINALMENTE ...

- DEBIDO A LA VARIACIÓN ESTACIONAL QUE PARECE EXISTIR PARA DETERMINAR EL ESTADO SANITARIO DE LAS EXPLOTACIONES SERÁ NECESARIO MUESTREAR LAS EXPLOTACIONES VARIAS VECES Y EN DIFERENTES ÉPOCAS.
- PERO LA VARIACION NO PARECE SER SÓLO ESTACIONAL. EN ALGUNAS EXPLOTACIONES HAY FACTORES PARTICULARES QUE HARÁN VARIAR LOS NIVELES DE INFECCIÓN DE UNA FORMA MÁS “ANÁRQUICA”



FINALMENTE ...

- EL PAPEL QUE LAS MADRES JUEGAN EN LA INFECCIÓN EN EL CEBADERO SIGUE PENDIENTE DE SER DEMOSTRADO. EN LAS EXPLOTACIONES DE CICLO CERRADO MUESTREADAS LA SEROLOGÍA (AL CUTOFF DEL 10%) NO INDICARÍA ESO.
- PARECEN EXISTIR MAYORES PREVALENCIAS (MICROBIOLÓGICAS) CUANDO LOS ANIMALES VIENEN DE DIFERENTES ORÍGENES → ¿RELACIÓN CON LA PREVALENCIA EN LAS EXPLOTACIONES DE ORIGEN O CON LA MAYOR SUSCEPTIBILIDAD DE LOS CERDOS ENTRADOS A UNA EXPLOTACIÓN CONTAMINADA DEBIDO A UN MAYOR ESTRÉS?



FINALMENTE ...

- LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS ES UN PROBLEMA EVIDENTE AL AFECTAR A ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS EN MEDICINA HUMANA ➔ MALA PRENSA.
- ADEMÁS ES UN PROBLEMA QUE SE INCREMENTA CON LA DETECCIÓN DE CEPAS RESISTENTES A CEFALOSPORINAS DE 3ª GENERACIÓN (PRIMERA DESCRIPCIÓN EN ESPAÑA).



AGRADECIMIENTOS

Entidad financiadora:
Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA)

Veterinarios:

- ADS de Porcino de Aragón
- Asociación Veterinarios de Porcino de Aragón –AVPA-
- Salud Pública (mataderos)
- Empresas integradoras

Mataderos:

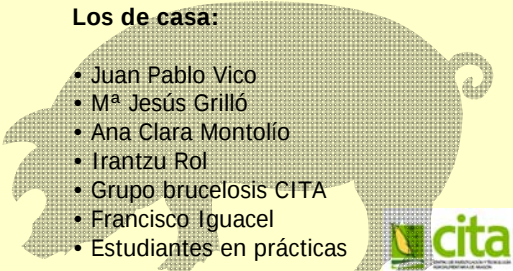
- FRIBIN
- Cinco Villas
- PELBOR
- CARTESA
- MERCAZARAGOZA
- Valderrobres

Otros:

- Laboratorio Agroalimentario:
 - Microbiología
 - Serología Porcina
- DGA – Sanidad Animal
- SIRASA

Los de casa:

- Juan Pablo Vico
- Mª Jesús Grilló
- Ana Clara Montolio
- Irantzu Rol
- Grupo brucelosis CITA
- Francisco Iguacel
- Estudiantes en prácticas



AGRADECIMIENTOS

INTEGRADORAS DE PIENSOS:

- ARPISA
- AGROPECUARIA DEL PIRINEO S.A.
- AGROPECUARIA SAN FERMÍN SL
- AGROPORSA
- AGROTURIA
- CALPOSA
- CARNES BINÉFAR
- CEJI
- CESAREO BUETAS SL
- CINCAPORC
- COOP. GANADEROS DE MONEGROS
- COOP. SANT ANTONI ABAD
- COOP SAN MIGUEL (TAUSTE)
- EXPLOTACIONES BAJO ARAGON
- GRANJA OÑATE SA
- GRANJA DOS HERMANAS
- GRANJA GOLLIZMOS
- GRANJA VILLANUEVA
- GRUPO AN
- GUCO
- GUISSONA
- HNOS SERAL RAPÚN S.A
- LERIDANA DE PIENSOS S.A.
- LOS ALECOS
- LOCEMALOJO,S.A.
- LLOGRASA
- MAZANA PIENSOS COMPUESTOS
- NANTA
- PEBAR
- PEX PORC
- PIENSOS COSTA
- PIENSOS DEL SEGRE, S.A.
- PIENSOS BAUCCELLS S.A.
- PIENSOS VIGORAN
- TUGASA
- UVESA
- VALL COMPANYYS S.A



*Odio la realidad, pero es en el único sitio
donde se puede comer un buen filete.*

Woody Allen

GRACIAS POR VUESTRA ATENCIÓN

