

10524
10



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**"PREPARACION DE UN ANTIGENO DE *Salmonella*
choleraesuis PARA EL DIAGNOSTICO DE
SALMONELOSIS EN CERDOS."**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
CASTILLO CASTILLO JUANA

DIRECTORES: DR. SUSANA MENDOZA ELVIRA
DR. ABEL CIPRIAN CARRASCO

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

A 2003



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACIÓN

DISCONTINUA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Preparacion de un antígeno de Salmonella choleraesuis
para el diagnostico de salmonelosis en cerdos.

que presenta la pasante: Juana Castillo Castillo
con número de cuenta: 9659115-8 para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 25 de Septiembre de 2002

PRESIDENTE M. en C. Clara Ines Alvarez Manrique *Clara Ines Alvarez M.*
VOCAL Q.F.B. Martha Patricia Campos Peon
SECRETARIO Dra. Susana E. Mendoza Elvira
PRIMER SUPLENTE Q.F.B. Gabriela Escalante Reynoso
SEGUNDO SUPLENTE M. en C. Nathaniel Soto Guevara

B

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

*Gracias por la vida, por llenarme de tanto amor,
Por llenar mi vida de alegrías (como el nacimiento de mi bebé Josué)
Y de momentos de tristeza.
Todo esto hacen que valore aún más, los momentos felices.
Por regalarme este momento tan anhelado y por rodearme,
De personas tan valiosas.*

A MIS PADRES

*Margarito y Yolanda, por haberme dado la vida ya que son los únicos responsables de todo lo que he
logrado, hasta este momento, muchas gracias por todo.*

*Este trabajo es un pequeño tributo,
A quien se merece el mayor de los homenajes.*

*Y es que no sabría como agradecer toda una vida llena,
De amor, ternura y paciencia.*

*Gracias por que hoy estoy aquí, y
Todo lo que soy, se los debo a ustedes.*

*Gracias por ser mis amigos,
Por la enorme confianza depositada,
Por sus consejos,
Por las palabras de aliento.*

*Porque DIOS me honro con su presencia.
Porque todos los momentos que hemos compartido,
Me han enseñado,
A valorarlos y,
A amarlos mucho más.*

LOS QUIERO MUCHO.

A MIS ABUELITOS

*Raymundo, Silvana, Nicanor y Gudelia; les brindo este esfuerzo,
Como prueba de afecto y cariño, diciéndoles, que a pesar de que
Se encuentran lejos de mí, siempre los he recordado y querido mucho,
Así mismo les agradezco a todos la confianza que siempre depositaron en mí.*

C

A MIS HERMANOS

*Lucia, Benedicta, Juan Ignacio, Catalina: Déjenme decirles que ustedes también
Merecen parte del crédito de este trabajo, ya que al igual que mis padres,
Me apoyaron infinitamente durante mi carrera, por esta razón ,
Les quiero decir que cuando alguien se propone una meta , logra alcanzarla,
Siempre que luche para eso, Mil gracias a ustedes.*

A MIS SUEGROS

*Gracias por su apoyo que me han brindado desde que me conocieron y por la confianza que han tenido
conmigo; ustedes fueron una parte importante en la culminación,
De este trabajo, son unas personas muy valiosas, "GRACIAS".*

A MI HIJO

*Este proyecto se lo dedico especialmente a mi bebe,
Ya que es mi razón de vivir desde que existe,
JOSUÉ me impulsa a seguir adelante con sus alegrías y llantos;
Gracias por tus gestos, tu pureza,
Que hacen que esas el bebé mas hermoso.
"TE QUIERO CON TODA EL ALMA HIJO"*

A LA DOCTORA SUSANA E. MENDOZA

*Por haberme brindado la extraordinaria oportunidad de trabajar,
En su laboratorio.*

*Gracias por tu amistad, el apoyo incondicional,
Por tu gran ejemplo, por tus atenciones.
Por la grande ayuda que me brindaste.
Gracias por compartir tus conocimientos conmigo,
Y para todos los que recurrimos a ti.
Gracias para hacerme un espacio resolviéndome mis dudas,
Y por la paciencia para que yo las comprendiera.*

AL DOCTOR ABEL CIFRIAN

*Gracias por la ayuda brindada en la realización de este,
Proyecto, por su asesoría y apoyo.*

A MIS SINODALES

*PATRICIA CAMPOS, CLARITA, GABRIELA ESCALANTE, NATALIE SOTO.
Gracias por su apoyo en la revisión de tesis y por la
Amistad que me brindaron en mi Carrera.
Por los conocimientos y por todas las atenciones.*

*A MIS AMIGOS DEL LABORATORIO
DAVID TRUJILLO, DAVID AMMIN, RICARDO TREJO,
ALEJANDRO, TANIA, RICARDO ALONSO, ROGELIO.*

*Gracias por todo, lo que he recibido de ustedes,
Por sus consejos, y sobre todo por la
Gran amistad que me brindaron.*

*A MIS AMIGOS DE SIEMPRE
JOSE LUIS, ARACELI, ELIVETTI*

*Gracias muchachos por su gran amistad que siempre me han brindado en los
Malos ratos que he tenido y sobre todo por estar siempre presentes;
En los malos ratos, que he pasado por todo esto:
"MUCHAS GRACIAS Y LOS QUIERO MUCHO"*

A MIGUEL ANGEL

*Gracias por la ayuda que me has brindado siempre,
Desde que nos conocimos, tu fuiste de gran ayuda,
En la realización de este trabajo ya que me apoyaste siempre,
Te agradezco mucho tu gran ayuda.
Tu me has alentado para seguir adelante y no
Quedarme en el camino estancada.
Por todo lo que he recibido:
"GRACIAS Y TE QUIERO MUCHO."*

GRACIAS

*A todos aquellos, que tuvieron algo que ver
En mi formación personal,
Por si olvidé hacerlo en este momento,
O por si desafortunadamente me olvidé,
Pero aún así, de todo corazón les agradezco,
Lo que hicieron por mí.*

INDICE

| | Pág. |
|--|-----------|
| RESUMEN | i |
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 Generalidades..... | 1 |
| 1.2 Etiología..... | 2 |
| 1.3 Transmisión..... | 4 |
| 1.4 Características clínicas..... | 5 |
| 1.5 Patogenia..... | 7 |
| 1.6 Lesiones..... | 8 |
| 1.7 Diagnóstico de laboratorio..... | 10 |
| 1.7.1 Diagnóstico bacteriológico..... | 10 |
| 1.7.2 Diagnóstico serológico..... | 12 |
| 1.8 Tratamiento..... | 14 |
| 1.9 Inmunización..... | 15 |
| 1.10 Control..... | 17 |
| 1.11 Problema de salud pública..... | 18 |
| 1.12 Utilización de vacunas en humanos y cerdos..... | 20 |
| 1.13 Justificación..... | 23 |
| 1.14 Hipótesis..... | 23 |
| 2. OBJETIVOS | 24 |
| 2.1 Objetivo General..... | 24 |
| 2.2 Objetivos Particulares..... | 24 |
| 3. MATERIAL Y METODOS | 25 |
| 3.1 Cepa..... | 25 |
| 3.2 Aislamiento..... | 25 |
| 3.3 Identificación..... | 25 |
| 3.4 Preparación del antígeno de <i>Salmonella choleraesuis</i> | 25 |
| 3.5 Evaluación en los sueros..... | 28 |
| 3.6 Obtención y diagnóstico en muestras de sangre y suero..... | 28 |
| 3.7 Procedimiento del método serológico: Aglutinación en placa..... | 28 |
| 3.7.1 Interpretación del método serológico..... | 29 |
| 3.7.2 Principios del procedimiento..... | 29 |
| 3.8 Estudio estadístico..... | 29 |
| 4. EXPLICACIÓN TOTAL | 30 |
| 5. DISCUSIÓN | 33 |
| 6. CONCLUSIONES | 37 |
| 7. REFERENCIAS | 38 |

RESUMEN

La salmonelosis en los cerdos es un problema directamente relacionado con las condiciones de salud que privan en la granja. Debido a esto sigue siendo un problema muy importante la presencia de *Salmonellas* en los cerdos que da lugar a dos problemas diferentes: la enfermedad en el animal y los aspectos de salud pública, ambos relacionados con la presencia de otros serotipos. Estos aspectos son importantes y si bien la enfermedad en el cerdo es severa y con frecuencia mortal, también la facilidad que tiene el cerdo para infectarse de manera asintomática con otros serotipos. El diagnóstico serológico ayuda a determinar si un cerdo ha estado expuesto a la *Salmonella*, pero la utilidad real de esta herramienta serológica no ha sido demostrada, a pesar de que existen pruebas de ELISA comerciales. El presente trabajo fue obtener un antígeno a partir de *Salmonella choleraesuis* para el diagnóstico serológico de Salmonelosis en cerdos. Se trabajó con la cepa de *Salmonella choleraesuis* vacunal. Primero se sembró la bacteria y se procedió a preparar la biomasa ; el antígeno de *Salmonella choleraesuis* se trato con diferentes técnicas para obtenerlo puro; se realizaron tinciones para colorear al antígeno , una parte de la biomasa con Rosa de Bengala y otra con Azul de Commassie. El antígeno con Rosa de Bengala (RB), sirvió para trabajarlo con sueros de cerdos y el antígeno teñido con Azul de Commassie (AC) para trabajar con muestras de sangre completa de los mismos animales. Estos antígenos previamente preparados sirvieron para la realización de la prueba de aglutinación en placa, en donde una reacción positiva al antígeno RB fueron los grumos característicos aglutinados y con el antígeno AC un anillo azul característico alrededor de los glóbulos rojos. Se muestrearon 629 cerdos y se trabajaron con los dos antígenos. De las muestras trabajadas con los respectivos antígenos mostraron la misma correlación entre ellos y de esta manera se obtuvieron 36 muestras positivas y 593 muestras negativas; evaluando estos resultados a porcentajes se obtuvo el 5.72 % de positivos y el 94.27% negativos. La interpretación de los resultados positivos a la prueba de aglutinación de los animales con antecedentes de no vacunación, a diferencia de los animales que fueron negativos las pruebas de aglutinación sin antecedentes de vacunación, se consideraron negativos.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 GENERALIDADES.

De los animales domésticos el cerdo es uno de los reservorios más importantes de *Salmonellas* y es susceptible a enfrentarse a varios serotipos, siendo el más importante *Salmonella choleraesuis*. Los serotipos de otros huéspedes que atacan al cerdo generalmente se aíslan del intestino y de ganglios linfáticos mesentéricos (Díaz, 1987).

El género *Salmonella* comprende una gran variedad de especies patógenas para el hombre o animales y habitualmente para ambos. Inicialmente las *Salmonellas* recibieron el nombre de la enfermedad que producían o el nombre de los animales a partir de los que eran aislados. Luego cada tipo antigénico fue considerado como una especie distinta recibiendo el nombre de la región geográfica en que fue aislado por primera vez (Bernard, 1983).

La Salmonelosis en cerdos es un problema relacionado con las condiciones de salud que predominan en la granja. Debido a esto, Sojka considera que en la Gran Bretaña el problema es poco importante, mientras que en México es aún común (Sojka, 1979).

En México no se ha podido tener un monitoreo excelente contra *Salmonella choleraesuis* como en otros países ya que las granjas no cuentan con el suficiente apoyo por parte del gobierno, y así el problema de Salmonelosis disminuye (Nielsen, 2001). *Salmonella* es un agente patógeno, causante de cuadros septicémicos y enterocóliticos en el cerdo y en el hombre (Carreon y cols, 2001).

La presencia de *Salmonellas* en cerdos da lugar a dos problemas diferentes:

1.- La enfermedad en el animal esta relacionada a la presencia de *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhisuis* y *Salmonella typhimurium*.

2.- Los aspectos de salud pública que da presencia de otros serotipos:

Es importante ya que la enfermedad en el cerdo es muy severa con frecuencia mortal; además tiene la facilidad el cerdo de infectarse de manera asintomática de otros serotipos, lo cual puede convertirse en uno de los principales focos de contaminación para los humanos (Sojka, 1979). Se ha visto que la introducción de *Salmonella* en grupos grandes de animales ocasiona una perturbación en las granjas haciendo esta infección en una salmonelosis zoonótica e infectando a otras manadas (Carlson y cols, 1998).

El animal portador (cerdo) clínicamente normal es problema grave en todas las especies huésped (Davies y cols, 1998).

La enfermedad se produce en el mundo entero y la incidencia esta aumentando con la intensificación de la producción de ganado. (Otto y cols, 1981). El objetivo de aislar *Salmonella* en varios proyectos; es para disminuir la infección de la mayor parte de las granjas u otros sitios y así se produzca carne de mejor calidad. En estos proyectos se trabaja con pruebas para el diagnóstico específicas de *Salmonella* como por ejemplo: ELISA, pruebas bacteriológicas, PCR (Wahlström y cols 1998).

Las infecciones causadas por *Salmonella choleraesuis* tienen un impacto económico muy significativo en la producción de la carne de cerdo, esta infección perjudica a los porculultores porque en ocasiones no se cuenta con granjas bien controladas para evitar la infección de toda la manada. (Baum y cols, 1998a).

La infección por *Salmonella* se reconoce como una causa importante de enfermedad entérica en los cerdos que puede perjudicar posteriormente a los humanos, ya que la carne de cerdo y los productos de la carne han sido implicadas en serias intoxicaciones alimentarias humanas (Kolb y cols, 1998).

1.2 ETIOLOGÍA.

El género de *Salmonella* pertenece a la familia de las Enterobacteriaceae y se caracteriza por ser bacterias gram negativas; la pared esta formada por tres capas esenciales; membrana citoplasmática, capa (peptidoglicana, delgada) y la membrana externa (capa exterior) (Torres, 1995).

La presencia de lípidos en la capa externa de los bacilos gram negativos es la causa de que estas bacterias sean mas resistentes a los agentes externos que las bacterias gram positivos. (Carreon y cols, 1998).

El género *Salmonella*, definido por su conjunto de características bioquímicas, es el serotipo mas frecuente en cerdos (Ferris y cols, 1990) y es uno de los más intensamente estudiados. Comprende un gran número de especies, reúne cerca de 2.000 tipos serológicos, tiene importancia en estudios epizootiológicos (Pijoan y cols, 1982).

Las serovariantes de *Salmonella* son bacilos gram negativos anaerobios facultativos. A partir de cerdos clinicamente afectados y asintomático se han aislado alrededor de 50 serovariantes. A partir de cerdos con salmonelosis clínica, la serovariante más frecuente aislada es *S. choleraesuis*. Las *Salmonellas* son patógenos facultativos. (Charles, 1991). Se han aislado aproximadamente el 95% de Salmonelosis en varios proyectos realizados en la Universidad de IOWA en 1989. (Schwartz, 1990).

Cada tipo serológico a su vez está caracterizado por antígenos específicos que pueden ser identificados mediante pruebas serológicas. Los antígenos que caracterizan los tipos serológicos de las *Salmonellas* son los antígenos O (somáticos), y los antígenos H (flagelares) (Borrego y cols, 1992).

La *Salmonella choleraesuis* es un huésped adaptativo, facultativo; es un patógeno intracelular el cual causa paratifoidea en puercos. (Wilcock y cols, 1992). De cerdos se ha aislado *Salmonella choleraesuis* que es un serotipo primario y se encuentra asociado con Septicemia (Bosworth y cols, 1998).

Solo las especies *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella typhisuis*, se adaptan al cerdo, la más notable de entre ellas es la *Salmonella typhisuis* la cual afecta únicamente a dicho animal, mientras que *Salmonella choleraesuis* afecta a otras especies (Buxton y cols, 1977). Por otra parte Wilcock sostiene que *Salmonella choleraesuis* parece estar limitada a ser huésped, específicamente de cerdos, situación que facilita la previa contaminación con este serotipo (Wilcock y cols, 1992).

El microorganismo esta muy difundido en todas las zonas del mundo donde se crían cerdos en cantidad; por esta razón el programa de Dinamarca se ha llevado a varios países incluyendo Estados Unidos (Kolb y cols, 1998). La repetición de la infección en ciertas granjas, año tras año, indica que el germen puede vivir durante todo el invierno en las heces y en animales que se han hecho portadores inmunes.

a. Factores de virulencia de *Salmonellas*.

1. Se han descrito enterotoxinas termolábiles y termorresistentes similares a las enterotoxinas de *E.coli*, pero su papel en las enteritis inducidas por *Salmonellas* no han sido resuelto.
2. Las enterocolitis inducidas por *Salmonellas* pueden provocar un aumento de la síntesis y secreción de prostaglandinas, las cuales a su vez estimulan la actividad adenil ciclasa de la mucosa. La adenil ciclasa actúa enzimáticamente sobre el ATP convirtiéndolo en cAMP cíclico, que produce en los enterocitos líquido anormal y transporte de cloruro y de sodio.
3. Se considera que los lipopolisacáridos juegan un papel principal en la patogenicidad y las manifestaciones clínicas de la salmonelosis.
 - a. La cadena O de los antígenos de polisacáridos juegan un papel importante en la especificidad del hospedados y en la invasión intestinal.
 - b. La potencia de la endotoxina es responsable de muchas de las manifestaciones clínicas (Charles, 1991).

1.3 TRANSMISION.

La fuente de infección comprende las heces de los animales infectados que pueden contaminar el alimento y el agua, las carnes frescas y procesadas de los mataderos, productos de plantas y animales usados. La puerta habitual de infección es oral, y después de la infección el microorganismo se multiplica en el intestino causando una enteritis (Otto y cols, 1981).

Los cerdos infectados subclínicamente con *Salmonella choleraesuis* son considerados la vía mas común de infección para otros cerdos su manifestación clínica puede ser desencadenada por varios factores entre ellos la presencia de enfermedades virales (Carreon y cols, 2001).

Los cerdos se contaminan con frecuencia con otros serotipos presentes usualmente en los alimento (Stege, y cols, 1998). Entre estos destacan *S.typhimurim*, *S.derby*, *S.saintpaul* y *S.heidelberg*. Estas pueden causar infecciones asintomáticas que revisten gran importancia en salud pública (Taylor, 1995).

La Salmonelosis se transmite por la ingestión de alimentos y bebidas contaminadas por heces eliminadas por los animales infectados. La prevalencia de la infección varía entre las especies y los países, y es mucho mas alta que la incidencia de la enfermedad clínica, que comúnmente es precipitada por situaciones de stress, tales como la suspensión súbita del alimento, transporte, sequia, aglomeración, parto reciente y la administración de algunos medicamentos (Otto y cols, 1981).

- A) Ingestión: El modo principal de transmisión es la ingestión de alimentos y agua contaminados con *Salmonellas* (las *Salmonellas* en las heces pueden sobrevivir en el ambiente durante 1 año o más). La mayoría de las epidemias de salmonelosis porcina son el resultado de la ingestión de heces contaminadas con *S. choleraesuis* o *S. typhimurium* a partir de cerdos clínicamente afectados o portadores asintomáticos. *Salmonella choleraesuis* se encuentra adaptada al cerdo, mientras que *Salmonella typhimurium* tiene un amplio rango de hospedadores que incluyen aves, animales domésticos y salvajes y el hombre (Charles, 1991).

No hay datos disponibles sobre la transmisión natural del portador de *Salmonella choleraesuis* en puercos (Hinton y cols, 1984). Solo hay estudios en gatos y pollo sobre salmonelosis.

- B) Cerdos portadores: Los cerdos adultos pueden llegar a ser portadores asintomáticos de salmonelosis por periodos indefinidos de tiempo. La bacteria puede persistir en bajo número en el intestino y excretarse con las heces, o las heces pueden contaminarse a partir de la vesícula biliar, que es el hábitat común de la bacteria.

Las *Salmonellas* también pueden persistir en los ganglios linfáticos regionales del tracto alimentario, pero no son excretadas con las heces (Charles, 1991).

Los microorganismos ingeridos se multiplican en las vías digestivas, y algunos de ellos penetran en los linfáticos intestinales y viajan a través del conducto torácico hacia la corriente sanguínea, donde se diseminan por todo el cuerpo y se elimina por la orina. Al mismo tiempo, los que permanecen en el intestino siguen multiplicándose en las heces (Bernard, 1983).

Salmonella choleraesuis produce una infección entérica aguda en los cerdos de todas las edades, en los Estados Unidos. Los cultivos recientemente aislados reproducen típicamente la enfermedad cuando se administran con los alimentos o se inyectan parenteralmente. El germen ha sido aislado también de ganado vacuno, perros, aves y es la *Salmonella* mas frecuente en zorras (Sojka, 1979).

En los humanos la salmonelosis la puerta de entrada es la vía digestiva. El bacilo debe sobrepasar la barrera defensiva representada por acidez gástrica. Son mas susceptibles los individuos con acolorhidria y aquellos que ingieren antiácidos. El agente que consigue sobrevivir las primeras 24 a 72 horas en el intestino, penetra el epitelio donde se multiplica y produce alteraciones histopatológicas.

En el caso de la fiebre tifoidea los bacilos buscan un habitat intracelular, lo que corresponde a la llamada fase mesentérica en la cual los gérmenes penetran a los ganglios y continúan multiplicándose para posteriormente pasar a la circulación sanguínea y a las Placas de Peyer, órganos linfoides del intestino (Borrego y cols 1992).

En un estudio realizado en la universidad de IOWA, se observó que los niveles altos de *Salmonella* se presentaba en las amígdalas, la colonización de estas bacterias era debido a la septicemia que presentaban los animales y por esta razón eran invadidos por *Salmonella choleraesuis*; por lo tanto las amígdalas se han descrito como un portador subclínico (Gray y cols, 1996).

1.4 CARACTERÍSTICAS CLINICAS.

Estudios epidemiológicos indican que aumentan la infección por el contacto con heces contaminadas. (Linton y cols, 1970).

- * Edad de susceptibilidad; pueden ser afectados los cerdos de todas las edades pero la enfermedad clínica es más frecuente en cerdos de 8 a 16 semana de edad, es poco habitual en cerdos de lactancia.
- * Serovariantes y enfermedad clínica, es importante en las manifestaciones clínicas y las lesiones de salmonelosis porcina. Las principales manifestaciones clínicas son septicemia aguda producida principalmente por *S. choleraesuis* y enterocolitis.

* Síntomas clínicos; la forma septicémica aguda se caracteriza por fiebre elevada, depresión, postración y muerte aguda. Los síntomas no específicos son manchas rojizas o moradas en la piel. La forma entérica de la salmonelosis se caracteriza por fiebre, anorexia, diarrea muco-hemorrágica, desnutrición progresiva y eventualmente muerte. Las heces diarreicas contienen con frecuencia cantidades variables de sangre, fibrina y mucosa necrótica desprendida (Charles, 1991).

Estudios indican que la infección depende del número de bacteria que sea excretada. (Fedorka. Y cols, 1994). Las fuentes usuales de infección en la granja son los animales enfermos (con cuadros de gastroenteritis), alimentos y agua contaminados (Bernard, 1983).

El cerdo puede presentar Salmonelosis por tres aspectos clínicos: (Taylor, 1995).

- 1) Forma septicémica: la enfermedad en cerdos presenta menos signos pero con mayor mortalidad y con mas frecuencia en lechones.

El cerdo puede morir sin signos o pueden presentar debilidad y temperaturas elevadas. Las lesiones más sugestivas en estos casos son esplenomegalia, linfadenitis, serohemorrágica e ictericia, frecuentemente se pueden encontrar zonas de decoloración en las orejas (Pijoan y cols, 1982).

El período de incubación es de dos días a varias semanas y la muerte sobreviene 1-4 días después de la iniciación de los signos. La Salmonelosis se puede evidenciar con una tinción de Gram a partir de muestras como el hígado (bastones Gram (-)).

En estudios que se les realizó a lechones con *Salmonella choleraesuis* se observaron signos como: fiebre, diarrea, escalofríos, stress respiratoria, depresión severa (tristeza) (Gray y cols 1996).

2) Forma Entérica Aguda: los animales presentan diarrea la cual es acuosa y mal oliente; se puede observar signos respiratorios y nerviosos, así como una fiebre elevada. En la necropsia se observa inflamación del tracto digestivo, y el contenido es acuoso con material necrótico presente; usualmente la mucosa intestinal esta engrosada y hemorrágica. Los nódulos, linfáticos mesentéricos pueden estar aumentados de volumen y hemorrágicos, el pulmón consolidado y neumónico, el hígado descolorido y los riñones con petequias.

3) Presentación Entérica Crónica: Taylor menciona la existencia de animales delgados, con fiebre intermitente y diarrea persistente con fibras grisáceos pero sin sangre. Las lesiones observadas son el intestino engrosado con mucosa necrosada, úlceras botonosas en la región ileocecal (Pijoan y cols, 1982).

Las fuentes usuales de infección dentro de la granja son:

- Los animales enfermos, sobre todo si presentan el cuadro gastrointestinal, son capaces de contaminar los pisos, paredes, comederos, bebederos, etc.

- Alimentos y agua contaminados con heces de roedores, en condiciones de infección masiva del alimento o de las instalaciones, solo un pequeño número de animales desarrolla la enfermedad clínica, puede depender de factores tales como infecciones concomitantes, estado nutricional, capacidad inmunitaria (Pijoan y cols, 1982).

Prohaska ha demostrado que los niveles altos de ácidos grasos pueden inhibir el crecimiento de *Salmonella* en una infección; estos ácidos grasos se obtienen del alimento de los cerdos, pero se menciona que el alimento húmedo es más factible ya que al fermentarse hay producción de bacterias productoras de ácido láctico y levaduras (Prohaska y cols, 1990); (Dahl, 1998c).

1.5 PATOGENIA.

* La patogenia de las infecciones por *Salmonellas* se puede describir en cuatro fases sucesionales.

1. Infección e invasión del tracto gastrointestinales.

- a. Muchas infecciones por salmonelas se adquieren por la ingestión de alimentos y agua contaminados con heces, siendo algunas infecciones el resultado de un recrudescimiento del estado de portador.
- b. Pequeñas cantidades de *Salmonellas* ingeridas invaden las membranas mucosas de todo el tracto alimentario y colonizan los tejidos linfoides, pero la ruta principal de invasión es desde la luz intestinal hacia la lamina propia y las placas de Peyer de ileon, ciego y colon.

Las bacterias que invaden la mucosa gastrointestinal provocan la liberación de líquidos, se multiplican en la mucosa e inducen una reacción inflamatoria aguda. Los neutrófilos son el tipo célula predominante estos focos iniciales de infección en la lamina propia, migrando muchos fagocitos hacia la luz intestinal (Pijoan y cols, 1982).

- c. Existe la multiplicación de *Salmonelosis* en el interior de los macrófagos del hígado, bazo y en el interior de vasos sanguíneos. En el cerdo la *Salmonelosis* depende de la dosis infectante y de la resistencia a la colonización del animal infectado. La enfermedad se observa con mayor frecuencia en aquellos animales que han estado sometidos a estados de estrés (Hirsh, 1994).

2. Proliferación en la pared celular y ganglios linfáticos regionales.

- a. La invasión y destrucción de las células epiteliales y células retículo-endoteliales de la pared intestinal da lugar a hemorragias en mucosas y serosas, seguidas de trombosis, necrosis y ulceración de las membranas mucosas. Estas lesiones se presentan principalmente en ileon, ciego y colon, que presentan elevadas concentraciones de tejidos linfoides.
- b. La bacteria alcanza los ganglios vía conductos linfáticos. La proliferación bacteriana provoca linfadenopatía con hemorragias.

3. Bacteremia / septicemia.

- a. Después de un período de proliferación en los ganglios linfáticos regionales, las bacterias invaden el torrente sanguíneo a través de los linfáticos y producen septicemia o bacteremia transitoria. Algunas infecciones permanecen en el foco primario de infección y no se diseminan.
 - (1) La septicemia es rápidamente fatal en los animales jóvenes. Entre las complicaciones se incluyen neumonía, meningitis y enteritis.
 - (2) En la bacteremia, los organismos son eliminados por las células retículo endoteliales fijas, especialmente en hígado, bazo y médula ósea. En esos tejidos la bacteria se multiplica, habiendo durante el curso del proceso una segunda fase de bacteremia que puede provocar una septicemia fatal o una localización secundaria en varios órganos y tejidos.

4. Localización intestinal.

- a. La bacteria alcanza la entrada en el intestino a través del hígado y de los conductos biliares, el resultado es una enterocolitis con diarrea.

1.6 LESIONES.

Los cerdos afectados por salmonelosis se encuentran anoréxicos, pierden peso y su abdomen queda ampliamente distendido la lesión es evidente por palpación digital y en la necropsia (Otto y cols, 1981).

En casos de fiebre tifoidea las lesiones mas notables que se encuentran en la autopsia son: la hiperplasia linfoide (afecta los ganglios linfáticos, placas de Peyer y bazo); necrosis focal del hígado, inflamación de la vesícula biliar y lesiones inflamatorias focales en el pulmón, médula ósea y periostio. Las hemorragias intestinales o las perforaciones del intestino son en general consecuencia de ulceraciones necróticas de las Placas de Peyer (Bernard, 1983).

A. LESIONES ENTERICAS:

Las lesiones intestinales se encuentran principalmente en ileon, ciego y colon. El duodeno y el yeyuno solo están ocasionalmente afectados. Las lesiones diftericas son probablemente el resultado de una salmonelosis intestinal primaria con lesiones ulcerativas secundariamente contaminadas (Charles, 1991). En cerdos que mueren de diarrea a la necropsia se observa principalmente colitis, restos gris-amarillentos sobre la mucosa del colon espiral y ciego, en el ileon hay ligero enrojecimiento y aspereza de la mucosa con ligera necrosis superficial. Los ganglios linfáticos mesentéricos están aumentados de tamaño y en ocasiones hemorrágicos (Díaz, 1987).

B. LESIONES VISCERALES.

Son frecuentes la linfadenopatía, hepatomegalia y esplenomegalia del bazo. Las lesiones mas sugestivas en estos casos son linfadenitis serohemorrágica e ictericia. Es frecuente encontrar zonas de decoloración o petequias en las orejas pero esta lesión no es patognomónica. (Pijoan y cols, 1982).

C. LESIONES SEPTICEMICAS.

Presentan meningitis, encefalitis y neumonía son complicaciones corrientes de las septicemias (Charles,1991). Algunos animales afectados mueren súbitamente presentando en la necropsia cianosis en orejas, cola y parte ventral de las extremidades, hemorragias de la mucosa gástrica, intestinos, corteza renal y epicardio, ganglios mesentéricos y bazo aumentados de tamaño e hiperemicos. En el hígado se puede encontrar pequeños focos blancos de necrosis.

En casos crónicos en necropsia se observa inflamación y erosión de la mucosa intestinal, así como áreas de ulceración en intestino delgado y grueso. (Díaz, 1987). Puede existir cianosis en pulmones e intestinos (Nielsen y cols, 1998b).

Se pueden desarrollar lesiones focales en cualquier tejido, produciendo osteomielitis, neumonía, abscesos pulmonares, meningitis o endocarditis. El microorganismo penetra en la pared intestinal e infectando los linfáticos regionales. En este momento también se infectan sistema biliar y puede causar necrosis de las Placas de Peyer (Wolfgang y cols, 1993).

1.7 DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.

Dadas las variadas manifestaciones clínicas de la Salmonelosis, la confirmación del diagnóstico de estas infecciones, requiere métodos microbiológicos que permitan el aislamiento o identificación del agente causal o de pruebas serológicas que facilitan reconocer anticuerpos específicos presentes en el suero de los pacientes (Borrego y cols, 1992).

Para la realización del diagnóstico se toma en cuenta las siguientes características:

- a. Síntomas clínicos: Esto se basa en los estudios realizados, ya que se observan signos como; fiebre, diarrea, escalofríos, stress respiratoria, depresión severa (Gray y cols, 1996).
- b. Lesiones : Es un parámetro importante para el diagnóstico, porque las lesiones que presenta el animal; se puede aislar el microorganismo.
- c. Cultivo: Se basa en el aislamiento e identificación bioquímica del género *Salmonella* e identificación serológica de las serovariantes (Charles, 1991).

1.7.1 DIAGNOSTICO BACTERIOLÓGICO

El diagnóstico de una infección por *Salmonella* se lleva a cabo aislando la bacteria a partir de la sangre, heces, orina u otros órganos. Si hay microorganismos en sangre, indica que se ha producido una invasión a los tejidos, en cambio el aislamiento a partir de heces no permite determinar que estos microorganismos sean los causantes de la enfermedad (Bernard, 1983).

Uno de los aspectos que complican el diagnóstico de laboratorio es el hecho de que *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella typhisuis* no crecen bien en los medios de laboratorio usuales para el aislamiento de *Salmonella* (Pijoan y cols, 1982).

El diagnóstico de laboratorio puede ser complicado ya que la *Salmonella choleraesuis* no crece bien en medios de laboratorio usuales, en especial el medio de selenito es muy inhibitorio para estas especies (Pijoan y cols, 1982).

El diagnóstico de las infecciones por *Salmonellas*, se fundamenta en los cultivos bacteriológicos de heces (Coprocultivos), de sangre o médula ósea (en los casos de fiebre tifoidea), de líquido cefalorraquídeo (en los casos de meningitis) y de aspirados de secreciones (en los casos de abscesos) (Carreon y cols 2001); (Heijden y cols, 1998).

*Hemocultivo: es el procedimiento de elección, cuando se realiza apropiadamente y en medios selectivos a base de bilis. Coincidiendo con la fisiopatología de la infección, son positivos durante la primera semana de la infección; al final de la tercera semana alcanza un 50% de positividad.

*Mielocultivo: el cultivo del aspirado de médula ósea es un buen método para el aislamiento de *Salmonella* ya que en los pacientes con fiebre tifoidea; el procedimiento produce una molestia transitoria, pero es bien tolerado y los cultivos son más rápidamente positivos, pueden ser positivos aún cuando los hemocultivos sean negativos.

*Coprocultivo: puede ser positivo desde el comienzo de la infección, aunque su máxima positividad en la infección aguda, se observa durante la tercera semana. Es útil para el posttratamiento de los pacientes y para detectar los portadores crónicos.

*Cultivo de bilis duodenal: obtenido por aspiración o utilizando la técnica que lleva un dispositivo en cápsulas de gelatina. No es superior al hemocultivo y con certeza no supera a la asociación del hemocultivo con el coprocultivo.

*Urocultivo: su valor diagnóstico es muy limitado pues la bacteriuria no es continua. Su máxima positividad esta en la tercera semana. La *Salmonella* también puede ser aislada de otros productos (Borrego y cols, 1992).

El examen bacteriológico de los nódulos linfáticos mesentéricos no nos reporta una indicación buena de infección contra salmonelosis en cerdos (Heijden y cols, 1998).

El sancamiento a largo plazo de los planteles contaminados, en la cadena de la producción y en el territorio, a través de la utilización de vacunas vivas serían más fáciles de alcanzar, si se logrará utilizar las vías naturales de acceso de las infecciones para alcanzar la inmunización y de esta manera estimular a los mecanismos de defensa locales, sistémicos, celulares y humorales del sujeto vacunado en una forma más efectiva (W.Scóll y cols 1984).

Durante los estadios agudos de gastroenteritis, el número de *Salmonellas* en las heces es grande, y la materia fecal es la elección (Otto y cols, 1981). Los hemocultivos representan las mejores muestras para la detección de septicemia y fiebre entérica en las primeras dos semanas de la enfermedad. Pueden salir hemocultivos positivos en el 80% de los pacientes con fiebre tifoidea durante este lapso y disminuye al 25% o menos hacia la cuarta semana (Wolfgang y cols, 1993). Los hemocultivos raramente son positivos pero los organismos causales pueden cultivarse a partir de las heces (Bernard, 1983).

Cuando las muestras para hemocultivos ya dan resultados negativos se pueden utilizar los cultivos de médula ósea ya que pueden ser resultados positivos para *Salmonella typhi* (Wolfgang y cols, 1993). Pueden encontrarse *Salmonellas* en otras muestras apropiadas, como esputo en caso de abscesos pulmonares.

La infección producida por *Salmonella choleraesuis* se comprueba mediante el aislamiento e identificación del germen. Esto lleva a la determinación de la estructura antigénica (Otto y cols, 1981).

1.7.2. DIAGNOSTICO SEROLÓGICO:

La elevación significativa en el título de anticuerpos frente a los microorganismos específicos aislados a partir del paciente resulta útil para conformar el diagnóstico.

La identificación final de las cepas aisladas se basa en sus características bioquímicas y las pruebas de aglutinación con antisueros monoespecíficos (Bernard, 1983).

Las pruebas serológicas para el estudio de las aglutininas específicas deben realizarse, como mínimo, como dos muestras: la primera, obtenida tan pronto como sea posible durante la enfermedad, y la segunda, 7 a 10 días después. Las distintas diluciones deben ponerse a prueba frente al organismo infectivo, así como frente a los Ag O y H estándar de *Salmonella* (Bernard, 1983); (Wingstrand. y cols, 1998).

*Reacción de seroaglutinación: es de poco valor como prueba diagnóstica. En la infección no tratada solo cerca del 50% de los pacientes pueden tener un aumento significativo de las aglutininas contra el antígeno "O", en algún momento de la enfermedad. Las aglutininas contra el antígeno "H" no tiene valor diagnóstico aunque pueden observarse títulos elevados de ellas.

Las aglutininas de tipo O resultan más útiles para el diagnóstico, ya que, después de una vacunación, las aglutininas H tienden a persistir durante mayor periodo de tiempo, y, en algunos casos, no son producidas durante una infección activa. La mayoría de los seres humanos y los cerdos poseen Ac frente a diversos grupos séricos de *Salmonella*, como resultado de infecciones inaparentes o de inmunizaciones previas; por otra parte, distintos tipos de *Salmonellas* poseen Ag idénticos (Bernard, 1983).

En muchos casos de fiebre tifoidea no hay elevación de los títulos de aglutininas durante el curso de la infección y en ocasiones se pueden observar elevaciones no específicas, debido a reacciones cruzadas.

*Diagnóstico inmunoenzimático: la detección de anticuerpos IgM e IgG contra el lipopolisacárido por técnica ELISA aún no está disponible para uso rutinario (Borrego y cols, 1992). Las técnicas serológicas han demostrado ser útiles para el cultivo bacteriológico de las heces excretadas; ya que cuando el animal desarrolla anticuerpos contra los antígenos de *Salmonella*, estos permanecen en concentraciones perceptibles en la sangre durante algún tiempo además son pruebas más precisas y puede ser relativamente barato (Heijden y cols, 1998).

En Dinamarca las pruebas que se les realiza a los cerdos para detectar salmonelosis es una mezcla-ELISA con esto detectan anticuerpos específicos de *Salmonella*. Si los resultados son positivos se hasta que su índice de salmonelosis sea bajo. (Blaha, 1998).

Con esta prueba se ha tenido una correlación buena con otros estudios que se han realizado (Ganter y cols, 1998).

La prueba de ELISA indirecta se basa en el lipopolisacárido ya que se desarrollan antígenos serológicos para proteger las manadas de cerdos (Heijden y cols, 1998); (Dahl y cols 1998).

La prueba de MIX-ELISA es una ELISA indirecta que usa el lipopolisacárido Extraído de *Salmonella typhimurium* (se utilizó el antígeno "O" serotipo 4,5 y 12) y para *Salmonella choleraesuis* (se utilizó el antígeno "O" serotipo 6,7). (Baum y cols, 1998b).

El diagnóstico de la salmonelosis en el cerdo a partir de muestras de heces o de tejidos mediante PCR no tienen problemas hasta el momento (Darwich y cols, 1999).

La reacción de PCR a sido de mucha ayuda ya que disminuye el tiempo para obtener resultados confiables, además de ser una herramienta útil para el diagnóstico en un futuro, con esta técnica se va a poder disminuir y controlar las enfermedades por selección genética (Bosworth y cols, 1998).

El uso de la PCR para la identificación definitiva de *Salmonella choleraesuis* presenta una especificidad muy alta. El uso de técnicas inmunológicas como el ensayo inmunoabsorbente tiende a ser mas específico y rápido que los cultivos bacteriológicos; estas técnicas son las que se están recomendándose ahora en estos tiempos (Bosworth y cols, 1998).

Con fines de investigación se han utilizado otras pruebas dentro de las cuales esta la reacción de polimerasa en cadena (PCR), las pruebas de fagotipificación, las de susceptibilidad antimicrobiana y la investigación del perfil plasmídico de algunas cepas. En los estudios epidemiológicos se usan las pruebas de fagotipificación, de susceptibilidad contra los antimicrobianos y el perfil plasmídico, las cuales han demostrado ser útiles y complementarias para el estudio de cepas aisladas de alimentos, o de aguas contaminadas, y en brotes de salmonelosis en los cuales se requiere establecer una fuente común de infección (Borrego y cols. 1992).

Del uso de determinados programas de inmunización con vacunas vivas atenuadas y vacunas inactivadas, es posible realizar un bloqueo de la cadena infecciosa principal de las infecciones por *Salmonella choleraesuis* en los cerdos. De esta manera se logra una ayuda efectiva en los esfuerzos de saneamiento de plantales durante la producción continua (W.Scöhl y cols. 1984).

1.8 TRATAMIENTO.

Los animales afectados se tratan en forma individual por vía intramuscular con el agente antibacteriano adecuado. A demás se recomienda dar tratamiento en el agua o en el alimento a todo el grupo de animales enfermos (Díaz, 1987).

Con antibióticos se puede lograr un tratamiento eficaz, pero existe un problema de resistencia a dichos antibióticos, posiblemente a la conjugación entre *Salmonella* con cepas de *E. coli* que ya existen en el intestino.

La furazolidona da resultados poco claros (Morilla, 1994), la ampicilina y cloranfenicol no impiden que los animales sigan excretando este microorganismo (Mittal y cols, 1984); comienza utilizar tetraciclinas, combinaciones de sulfas; pero los animales quedan como portadores sanos.

En la actualidad se disponen de varios antimicrobianos útiles para el tratamiento de las infecciones por *Salmonella*, dentro de las cuales están el cloranfenicol, la ampicilina, la amoxicilina, el sulfametoxazol-trimetoprim, las cefalosporinas de tercera generación, como la cefotaxina, la cefoperazona; y las fluoroquinolonas como la ciprofloxacina y la ofloxacina (Jawetz, 1996). También existen otros medicamentos que se han utilizado en proyectos que se realizan para ver la resistencia que presenta *Salmonella*, como la espectomicina, estreptomocina, sulfonamidas y tetraciclinas, fluoroquinolonas (Nielsen y cols, 1998b).

Se ha demostrado que la *Salmonella choleraesuis* presenta resistencia a amoxicilina y ampicilina por lo cual puede tener menor resistencia si se utiliza una combinación con ácido clavulínico o puede utilizarse otros como las tetraciclinas (Kavanagh, 1998).

En la especie animal porcina poco sensible a las endotoxinas tanto la aplicación oral como parenteral de *Salmonella choleraesuis* en la magnitud de dosificación de 5×10^7 hasta 5×10^9 UFC, fue tolerada sin manifestaciones clínicas en todas las edades, exceptuando un aumento de la temperatura corporal interna hasta 41°C . Los resultados de contaminación experimental y autopsias demuestran una leve superioridad en la inmunización oral. La realización de esto exige, para la inmunización de lechones lactantes de 3 semanas de edad, un plazo que fue determinado por la superioridad inmunológica y en la camada se mantuvo junto a la hembra, administrándoseles bebida adicional solo en forma esporádica y una aplicación única oral con la jeringa semiautomática (W.Scóll y cols, 1984).

1.9 INMUNIZACION

La producción de la inmunidad se debe a la interconurrencia de dos factores: anticuerpos y antígenos.

Las vacunas se emplean para la profilaxis, especialmente en el ejército y la marina. Aunque es difícil valorar exactamente esta medida, la mayor parte de los autores consideran que la presentación de casos se reduce. Las vacunas que se preparan de modo que no se altere el factor termolábil Vi, se consideran de mayor valor que las no provistas del mismo (Otto y cols, 1981).

En la actualidad existen dos vacunas: una para administración oral y otra parenteral. Están indicadas para las personas que viajan a regiones endémicas, para las que viven en regiones de alta incidencia, para las que habitan en instituciones de condiciones sanitarias deficientes y para los contactos caseros de los portadores de *Salmonellosis*.

Los refuerzos deben ser administrados cada 5 y 3 años para las formas oral y parenteral respectivamente (Darvich y cols, 1999).

En general, las vacunas frente a *Salmonellas* no han proporcionado protección inmunitaria adecuada en cerdos (Charles, 1991). En cuanto a la *Salmonella typhosa* quedan inmunes a los efectos del germen; sin embargo, la persistencia de la bacteria en la vesícula biliar indica que no se logra una inmunidad total. Durante las infecciones se forman anticuerpos, por lo que se crea un cierto grado de inmunidad humoral.

La prueba de MIX-ELISA, con la utilización de lipopolisacáridos da mejores resultados en comparación con otras pruebas; además nos sirve para descubrir otros serotipos de *Salmonellas*. (Heijjden y cols, 1998).

Para la inmunización de los animales adultos debe encontrarse un camino para superar la barrera estomacal, lo que se puede conseguir a través de la administración de la vacuna viva en una mezcla del 10% de agua para beber y leche desnatada, (la mezcla corresponde al 1% de agua y leche desnatada en polvo). De esta manera es posible practicar la inmunización oral de grupos a partir del destete y las correspondientes relaciones de manutención.

Los anticuerpos maternos presentes en los lechones no interfieren en las pruebas de ELISA cuando se les realiza a muestras de lechones de 8 semanas. (Heijjden y cols, 1998).

Para una vacuna en general, se lleva el siguiente programa de aplicación:

- inmunización básica única de todos los animales reproductores en forma oral o parenteral.
- Inmunización de las hembras madres o dos veces antepartum, por vía oral o parenteral en combinación con otras aplicaciones suministradas como vacuna viva, por ejemplo vacuna viva contra disentería coli de los lechones lactantes.
- Inmunización estricta oral de los lechones lactantes de 3 semanas de vida.
- Inmunización única de todos los cerdos jóvenes de engorda, al ser estabulados en el plantel de engorda, ya sea por vía oral o parenteral en combinación con otras aplicaciones suministradas en el periodo de mantenimiento como vacuna viva. Este programa comienza desde la existencia de la inmunización individual de cada grupo animal a fin de prevenir enfermedades clínicas, alteraciones y pérdidas en la producción, lo cual tiende a un saneamiento efectivo.
- En los cerdos los vacunados altamente sensibles a las endotoxinas no toleran en todos los casos las reacciones anafilácticas de incompatibilidad que se pueden presentar después de una aplicación parenteral con otros preparados. (W.Scöll y cols, 1984).

La vacunación con bacterinas es de gran ayuda. En Europa existen vacunas vivas avirulentas que pueden ser útiles si se administran dos semanas antes de la exposición. Hay otra vacuna que es la Enterisol SC-54 que se utiliza contra *Salmonella choleraesuis*.

Los sueros inmunes homólogos así como vacunas de absorción de células completas inactivadas con formalina e hidróxido de aluminio Salmovacc y Salmoporc fueron utilizados hasta mediados de la pasada década por el Instituto de vacunas y por quienes colaboraban con él en la lucha contra la salmonelosis en nuestros animales domésticos mas importantes y que son causadas por las especies adaptadas al cerdo como la *Salmonella choleraesuis*. La producción de estas vacunas en fermentadores, garantiza un alto rendimiento de biomasa bajo condiciones óptimas de cultivo. (W.Scöll y cols, 1984).

Como positivo a *Salmonella choleraesuis* se muestra un medio mutagénico que provoca defectos en el metabolismo de la purina, el que se manifiesta como purinauxotrofia.

El grado de estabilidad e intensidad de crecimiento de *Salmonella choleraesuis*, ayuda en el modo de atenuación tanto en el laboratorio como en la inmunogenicidad para observarlos in-vitro.

Sin embargo su capacidad reproductora no se encuentra limitada a animales no vacunados, puesto que la infección se puede presentar incluso en animales previamente vacunados. (W.Scöhl y cols, 1984).

1.10 CONTROL

Existe la preocupación de que el ganado se este infectando con *Salmonellas* patógenas y que sea consumida la carne por los humanos (Wingstrand. y cols, 1998).

Para reducir la contaminación de los cerdos sanos por los animales infectados de los cerdos infectados con los animales sanos, se matan en los rastros bajo ciertas precauciones higiénicas especiales, como por ejemplo: los cadáveres son distribuidos rápidamente o son tratados con calor o también por salado de la carne. (Wingstrand. y cols, 1998).

El problema se agrava porque los cerdos pueden infectarse en los corrales del matadero y porque la maquinaria del rastro también se encuentra contaminada. (Thomas, 1977).

La sanitización de las granjas a largo plazo van a ser beneficiarías a la humanidad principalmente van a producir ventajas a los consumidores (Blaha, 1998).

Otras medidas de control incluyen el adquirir alimento de compañías que controlen el microbismo de sus productos, comprar animales de granjas sin problemas; retirar y aislar a los animales infectados; eliminar la fuente original de infección ya sean los tanques de suministro de agua, el alimento u otros animales infectados (Emborg y cols, 1998).

En el programa contra salmonelosis en Dinamarca que el alimento que deben ingerir los animales deben ser tratados con calor (81 °C) y es obligatorio aplicar el exámenes bacteriológicos y serológicos a todos los lotes; en caso de salir positivas a *Salmonella choleraesuis* las muestras, se deben de re-esterilizar los alimentos. Por otra parte los resultados de las pruebas se publicaran para que el proveedor este informado (Blaha,1998); (Christensen,1998).

La prueba de MIX-ELISA, sirve como exámen de diagnóstico para porcicultores y en general para todos; fue desarrollada como una herramienta para utilizarla en el Programa de Vigilancia de *Salmonella* Dinamarqués. (Dahl, 1998c).

En Estados Unidos se utilizó también esta prueba para la seroprevalencia de *Salmonella* en las manadas de cerdos (Baum y cols, 1998c). El propósito de estos estudios era determinar si la MIX-ELISA podría ser considerado para usar como herramienta en el monitoreo de *Salmonella* en Estados Unidos; los estudios que realizaron se basaron en los cultivos bacteriológicos, y pruebas serológicas (Baum y cols, 1998c)

Por los resultados de varios experimentos que se han realizado en Estados Unidos han demostrado que la prueba de MIX-ELISA es capaz de descubrir los serotipos de *Salmonella* en las muestras fecales así como en el nódulo mesentérico linfático; esta prueba se puede usar en manadas de cerdos con alta incidencia de Salmonelosis. (Baum y cols, 1998a).

Si los animales llegan a morir; el cadáver lo colocan en una bolsa de plástico que se pueda sellar bien por fuera, se les debe quitar la lengua, ya que a menudo se pueden contaminar las amígdalas con *Salmonella* porque es un medio favorable para crecer; por otra parte deben desinfectarse las herramientas y las manos bien para evitar mas contaminación (Blaha, 1998).

Desde que los productores del cerdo dinamarqués estaban de acuerdo en el control de *Salmonella* en la carne de cerdo se ha tratado de llevar un control en los mataderos y en el mercado para que los consumidores y productores estén satisfechos con su producto, este control se ha tratado de llevar al norte y oeste de Alemania para eliminar la infección por *Salmonella* (Ganter y cols, 1998).

Por otro lado los anticuerpos maternos, no disminuyen la efectividad de inmunización, que puede comenzar en los primeros días de vida dependiendo a la exposición que se encuentren.

La efectividad de la vacuna dependerá del desarrollo de los cerdos misma que se hara notar a partir de la sexta semana de crecimiento. (W.Scöfl y cols 1984).

Al reducir la infección por *Salmonella choleraesuis* en cerdos se da un paso muy importante ya que se puede asegurar que la producción de carne de cerdo en granjas sea de buena calidad. (Damman y cols, 1998).

Para lograr un estado de Salmonelosis negativo se considera que los alimentos deben tener un pH bajo y estar presentes ácidos orgánicos, así como presentar un efecto protectorio para los lechones, y las paredes de los corrales en perfectas condiciones. El efecto protectorio se basa en la buena lactancia de los animales ya que en la leche materna se da una transferencia de anticuerpos. (Wingstrand y cols, 1998).

1.11 PROBLEMA DE SALUD PUBLICA

La *Salmonella choleraesuis* raramente se involucra en problemas de humanos, cuando lo hace estos tienden a ser de gran severidad.

La infección por *Salmonella* se encuentra extendido en un gran sistema y continua existiendo en altos niveles sobretodo para la productividad.

La transmisión de anticuerpos proporcionados por las madres a los lechones es relativamente insignificante cuando existe una infección muy fuerte en la granja por *Salmonella choleraesuis*; para que no exista este tipo de problemas se debe llevar un control de sanitización con el que se puede disminuir la infección provocada (Davies y cols, 1998).

La efectividad del programa de inmunización fue controlado por el Instituto de Vacunas de Dessau y grupos de colaboradores de numeroso institutos departamentales de Medicina Veterinaria, durante años y en determinadas aplicaciones experimentales.

Para los datos obtenidos resulto importante que el comportamiento permita una sencilla y clara limitación entre gérmenes inyectados y los del medio, a través de la utilización de test de rutina (Suisaloral). De esta manera se obtuvo la seguridad necesaria en los resultados del estatus bacteriológico de los planteles respecto a la aparición de *Salmonellas*. (W.Scöll y cols 1984).

Los primeros usuarios de *Salmonella choleraesuis* (vacuna viva Suisaloral) pudieron constatar que las pérdidas directas en cerdos jóvenes en los planteles contaminados con *Salmonellas*, inmediatamente después del inicio de las vacunaciones, y pérdidas indirectas como consecuencia de los animales enfermos crónicamente, disminuyeron en forma considerable, de un 30 a 45% de los animales jóvenes y en los costos de tratamiento de cada lechón destetado en un 50%.

Sobre el control clínico de *Salmonella Dublin*, tiene una disminución en pérdidas directas de terneros en los planteles contaminados de experimentación. La ganancia diaria de los animales vacunados alcanza desde un 52% hasta un 67%, por arriba de los animales de control. En los planteles de experimentación contaminados con salmonelosis porcinas, las comprobaciones de *Salmonellas* de cepas silvestres finalizaron de 4 hasta 5 meses después de la introducción y aplicación total del programa de vacunación.(W.Scöll y cols, 1984).

Debido a esto es importante que los veterinarios y porcuicultores estén conscientes de este problema y realicen un esfuerzo intenso por identificar a los reactores y fuentes de contaminación con el propósito de eliminarlos.

Para tener una menor contaminación por *Salmonella choleraesuis* es necesario realizar pruebas de identificación tanto en las granjas como en los mataderos y sobretodo vigilar de una manera adecuada la alimentación de los animales (Blaha y cols, 1998).

1.12 UTILIZACION DE VACUNAS EN HUMANOS Y CERDOS.

En la actualidad para humanos existen dos vacunas: una para administración oral y otra parenteral. Están indicadas para las personas que viajan a regiones endémicas, para los que viven en regiones de alta incidencia, para los que habitan en instituciones de condiciones sanitarias deficientes y para los contactos caseros. Los refuerzos deben ser administrados cada cinco y tres años en cuanto a las formas oral y parenteral respectivamente (Borrego y cols, 1992).

Para reducir la infección por *Salmonella choleraesuis* se ha realizado una vacunación con la SC-54 que ha ofrecido buenos resultados y la valoración de los cerdos se ha logrado con la utilización de la serología, para supervisar los grupos de producción. (Kolb y cols, 1998).

Del Instituto de Vacunas Dessau de la Academia de Ciencias Agrarias de la RDA Berlín se utilizaron para la elaboración de vacunas vivas, mutantes con dos niveles de atenuación independientes entre sí. El acoplamiento de niveles dobles garantiza la estabilidad genética en condiciones prácticas.

En la lucha contra la salmonelosis se dice que:

- la disminución inmediata y eliminación progresiva de las pérdidas directas e indirectas causadas por las salmonelosis en los planteles contaminados enzoóticamente,
- el impedimento en el progreso de la difusión de las infecciones de los planteles,
- el sancamiento a largo plazo de los planteles contaminados, a través de la utilización de vacunas vivas serían mas fáciles, si se logrará utilizar vías naturales de acceso a las infecciones; para alcanzar la inmunización y estimular a los mecanismos de defensa locales, sistémicos, celulares y humorales del animal vacunado en una forma mas efectiva.

Bajo una estricta atención a las recomendaciones de la OMS respecto a las vacunas bacterianas de aplicación oral hemos procedido a formular nuestras líneas de trabajo con buenas expectativas a desarrollar un preparado inmunológico de este tipo (W.Scöhl y cols, 1984).

Para la infección contra *Salmonella choleraesuis* los laboratorios han diseñado una vacuna SC54 con la cual se han hecho experimentos y los datos indican que esta vacuna reduce el contagio; es una vacuna viva avirulenta y se ha descrito con el propósito de proteger a los cerdos contra infecciones causadas por *Salmonella choleraesuis*; aunque para *Salmonella typhimurium* no se reduce la infección al realizar la vacunación (Baum y cols, 1998c).

Para mutantes de *Salmonella* se basan en ensayos preclínicos introducidos en la práctica en 1976 y 1978 de *Salmonella choleraesuis*, esta persistencia alcanza para conformar una inmunidad en los cerdos de dos a tres semanas de vida, o en terneros lactantes de hasta seis semanas de edad, la cual es duradera durante varios meses y después de casi dos semanas es capaz de tener una infección experimental de una magnitud de DL₅₀. En una forma es precedida por una rápida fase de protección; este mismo efecto ha sido observado por otros investigadores después de la aplicación de otras bacterias gram negativas o de sus productos metabólicos.

La administración oral de la dosis inmunogénica (vacuna) es tolerada por los terneros lactantes de diversas edades sin ningún problema con la utilización de leche.

De esta manera se ofrece a todos los planteles donde el calostro o la leche se administran en un estado no conservado o no purificado, o donde se administra leche combinada sin un efecto nutritivos, se recomienda la posibilidad de utilizar la tecnología existente en el régimen de bebida, para la obtención de la inmunización oral. (W.Scöll y cols, 1984).

El completo éxito clínico alcanzado , durante pocas semanas hasta un máximo de 6 meses en el programa de inmunización con Suisaloral; logró en los grupos de animales jóvenes de tres planteles una disminución en las pérdidas que van desde un 22 hasta un 74%. De esta manera se volvió a alcanzar el nivel de rendimiento original que a causa de la salmonelosis estaba alterado.

La tendencia similar de los hallazgos hechos en los laboratorio de diagnóstico respaldan estos informes. Sin embargo se considera como el resultado más importante, en el sentido de las metas fijadas, el hecho de que en todos los planteles porcinos de crianza controlados no se constató la presencia de una cepa silvestre de *Salmonella choleraesuis* lo cual fue factible de realizar con éxito. La condición o estado libre de salmonelosis fue posible de lograr en cada caso sin detección de la producción.

El éxito de la aplicación de la vacuna no depende de la capacidad biológica del rendimiento de ambas vacunas vivas, sino que además también el criterio de su aplicación. Las exigencias epizootiológicas, el grado de rendimiento biológico de los preparados inmunológicos y las condiciones de organización para la aplicación de vacunas deben hacerse coincidir (W.Scöll y cols,1984).

Considerando que :

- Los vacíos en el programa de vacunación contra la salmonelosis porcina, durante el primer mes del inicio de la inmunoprolifáctica determina de inmediato un nuevo aumento en las pérdidas de animales jóvenes, aun cuando la higiene sea cuidadosa.

- Que en los resultados de los controles bacteriológicos positivos de *Salmonella* en los planteles porcinos totalmente inmunizados, aunque con la misma tendencia primero con un claro retraso temporal, volvieron a los valores de los laboratorios de diagnóstico.
- Desde el inicio de un programa de vacuna relativamente completo, tendiente a lograr el completo saneamiento y favorecido a su vez por la introducción de la forma cerrada de reproducción de ganado, fueron necesarios 5 años más o menos hasta el saneamiento del ganado.
- Bajo las condiciones de una reproducción abierta en planteles industriales de crianza de bovinos jóvenes, se presentaron casos de enfermos clínicos entre terneros inmunizados y aun apareciendo abortos en las hembras primerizas (Nielsen y cols, 1998a).

Tal vez no se logre o solo de manera ineficiente la obtención de animales que no sean portadores latentes de gérmenes, a través de la utilización de vacunas vivas libres de cepas silvestres. De esta manera no se puede hablar en sentido correcto de una eliminación de las cepas; la cadena infecciosa principal será interrumpida a través de bloqueo de una nueva multiplicación y dispersión de las cepas silvestres en los animales susceptibles.

Es necesario tomar en consideración que el efecto no solo es factible de ser alcanzado a través del uso seriado de inmunizaciones con bacterias vivas atenuadas, sino que también por medio de inmunizaciones iniciales con vacunas vivas y con posteriores revacunaciones con antígenos inactivados (W.Scöll y cols, 1984).

Actualmente el uso de vacunas ha demostrado disminución de infecciones y se han observado beneficios reduciendo la enfermedad y mortalidad (Bosworth y cols, 1998).

1.13 JUSTIFICACION DEL PROYECTO DE TESIS

La infección de salmonelosis provocada por *Salmonella choleraesuis* es una enfermedad que afecta a nuestro país ya que año con año causa severas pérdidas económicas para el sector porcícola, aunque se han realizado varios estudios y profundas investigaciones al respecto, no se tienen mucha información sobre este problema que está afectando al mundo.

En los cerdos, la infección en el tracto digestivo es la más común, pero como se ha visto también puede afectar el tracto respiratorio en infecciones más avanzadas. En las investigaciones que se han realizado se ha observado que los tipos de *Salmonella* que afectan al ganado porcino es *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella typhimurium*.

La infección con *Salmonella choleraesuis* ha resultado ser una pérdida económica general debido a la alta contaminación por este microorganismo y a la alta mortalidad también; observada en los cerdos infectados. Casi no se dispone de información respecto a la edad en la cual los lechones se pueden infectar por la bacteria, aunque como sabemos esto puede ser después del destete ya que las madres por medio de la lactancia les proporcionan a los lechones anticuerpos específicos para algunas infecciones y esto ayuda a que no se infecten pronto los lechones.

Un gran paso para eliminar la salmonelosis en cerdos es mediante el desarrollo de vacunas efectivas y seguras, aunque hasta el momento se están realizando estudios con vacunas no ha sido posible obtener una buena vacuna que nos reporte resultados de hasta un 100%. Esto puede ser debido a que no hay gran estudio e investigaciones sobre dicha enfermedad, como se observó existen medicamentos que nos pueden ayudar a combatir dicha infección solo que hay *Salmonella* que ya presentan resistencia a varios antibióticos.

Por esta razón, con el presente trabajo se pretende realizar una prueba rápida y de fácil elaboración basada en la especificidad del serotipo de *Salmonella choleraesuis* que nos ayude a evaluar granjas porcícolas, mediante una prueba de aglutinación en placa que ayude a detectar animales portadores e infectados con dicho microorganismo permitiéndonos aportar tratamientos alternativos y opciones diferentes encaminadas a erradicar la enfermedad causada por *Salmonella choleraesuis*.

1.14 HIPOTESIS

El antígeno obtenido servirá para detectar animales enfermos de salmonelosis.

2. OBJETIVOS.

2.1 OBJETIVO GENERAL

Obtener y evaluar un antígeno a partir de *Salmonella choleraesuis* para el diagnóstico serológico de Salmonelosis en cerdos a nivel de granja y laboratorio, como en un estudio preclínico.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

2.1.1. Obtener la biomasa de *Salmonella choleraesuis* a partir de diferentes medios de cultivo para tener un mejor rendimiento bacteriano.

2.1.2. Realizar el acondicionamiento de la biomasa de *Salmonella choleraesuis* para tener dos antígenos con diferentes tinciones.

2.1.3. Evaluar el antígeno obtenido con muestras de sueros de 500 animales procedentes de diferentes granjas, mediante la técnica de aglutinación en placa.

3. MATERIAL Y METODOS.

3.1. Cepa:

Para la realización de este trabajo se utilizó la cepa SC-54, de *Salmonella choleraesuis* previamente liofilizada; referencia ATCC. (Baum y cols, 1998b).

3.2 Aislamiento:

a) La cepa bacteriana de *Salmonella choleraesuis* se sembró en Agar Sangre en condiciones asépticas.

b) Se colocó la caja inoculada en la estufa con parámetros como temperatura a 37° C por 24 hrs, se retiró de la incubadora bacteriológica y se observó el crecimiento bacteriano.

c) Por otro lado se prepararon pruebas bioquímicas tanto primarias (preparación de los reactivos para el gram); como secundarias (H₂S, producción de indol, prueba de motilidad, nitratos, urea, citratos, MR-VP), por lo que se esterilizaron y se colocaron también en la incubadora bacteriológica para prueba de esterilidad.

3.3. Identificación:

a) Al cultivo puro que se obtuvo en Agar Sangre se le realizaron pruebas bioquímicas para confirmar la identificación de *Salmonella choleraesuis*, las cuales fueron: Gram, H₂S, producción de indol, prueba de motilidad, nitratos, urea, citratos, MR-VP (Difco, 1985); (Graham y cols, 1975).

b) Al confirmar la identificación de *Salmonella choleraesuis* se resembró en Agar Sangre por el método de sembrado masivo, se incubaron en la estufa bacteriológica a temperatura de 37° C por 24 horas, hasta obtener un crecimiento aceptable de la bacteria.

3.4. Preparación del Antígeno de *Salmonella choleraesuis*:

a) Después de obtener un buen crecimiento de la cepa de *Salmonella choleraesuis*, se procedió a la preparación de un medio en caldo enriquecido porque contenía varios nutrientes, el cual se esterilizó a 15 lb. por 15 minutos.

b) Luego de pasar la prueba de esterilidad; se tomo el crecimiento de *Salmonella choleraesuis* que se encontraba en placas de Agar Sangre ayudándonos con una espátula estéril, raspando y colocándola en el caldo, todo esto se realizó en condiciones de esterilidad.

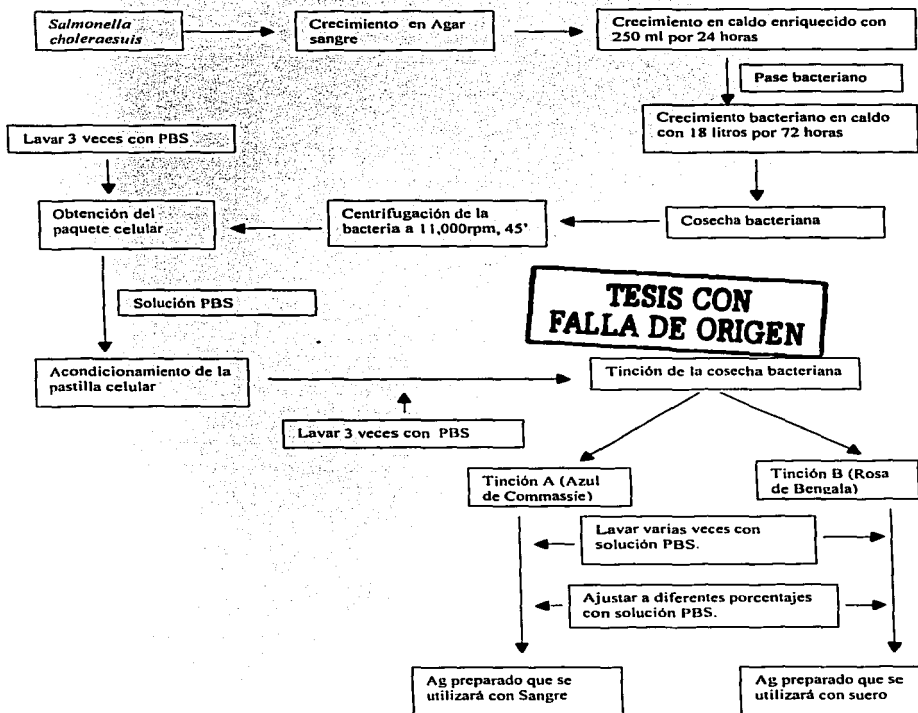
c) Al terminar de sembrar en el caldo la bacteria, se incubo en baño Maria a 37° C durante 48 horas obteniendo un mejor crecimiento bacteriano, posteriormente, se realizó una tinción de gram y así poder descartar una posible contaminación.

Los medios con que se preparo el caldo para cultivar las bacterias contenían nutrientes como: peptonas, carne, levaduras, etc.



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

d) Al obtener el crecimiento de *Salmonella choleraesuis* en caldo se procedió a la preparación del antígeno de la siguiente manera:



3.5. Evaluación en los sueros:

a) Una vez obtenidos los dos antígenos de *Salmonella choleraesuis*, se realizó un muestreo de forma aleatoria en varias granjas; de donde se trabajaron con 495 cerdos de diferentes etapas de crecimiento, de estas muestras se obtuvo el suero para realizar la prueba de aglutinación.

3.6 Obtención y diagnóstico en muestras de sangre y suero.

b) Por otra parte se realizó un muestreo aleatorio a 125 cerdos en la granja de la UNAM ubicada en Jilotepec, Estado de México; para esto se utilizaron cerdos de varias etapas (crecimiento, engorda, pie de cría, lactancia e iniciación). las muestras biológicas que se obtuvieron fueron, sangre completa y suero para trabajarlas en la prueba de aglutinación con el antígeno de Azul de Commassie y con Rosa de Bengala respectivamente.

Para la obtención de la muestra de sangre; primeramente con la ayuda de una torunda humedecida con etanol se limpiaba la oreja del cerdo; posteriormente se puncionaba con una lanceta limpia y estéril; se dejaba caer unas gotas, de la oreja se tomaba una gota de sangre en la placa de aglutinación para realizar la prueba en el mismo lugar (granja), utilizando el antígeno teñido con Azul de Commassie.

Por otra parte para la obtención de la muestra de suero: primero se palpaba la vena cefálica; se desinfectaba con etanol utilizando una torunda posteriormente con la ayuda del sistema vacutainer se tomaban 5 ml de sangre aproximadamente, estas muestras se trasladaron al laboratorio donde se llevo a cabo la separación del suero.

3.7 Procedimiento del método Serológico

El método serológico utilizado fue aglutinación en placa, tanto en suero como en sangre.

- a) Se dejo estabilizar el frasco que contiene el antígeno de *Salmonella choleraesuis* (reactivo de aglutinación) a temperatura ambiente (12 a 25 ° C) durante 15 minutos.
- b) Se deposito una gota de suero con la pipeta de muestra en una de las celdas o pozos de la placa.
- c) Se coloco una gota del reactivo de aglutinación en la celda que contiene la gota de suero a diagnosticar.
- d) Se incorporo la mezcla con movimientos rotatorios utilizando un palillo mezclador.

- e) Se tomó la placa de las esquinas con los dedos índice y pulgar de ambas manos y se agitó la placa suavemente con movimientos ondulatorios durante 2 minutos.
- f) Después de que la placa fue agitada a temperatura ambiente, se hace la lectura durante los primeros 4 minutos (Juárez, 2002).

NOTA: Con las muestras de sangre completa también se realizó de la misma forma que en los incisos c, d, e, y f.

3.7.1 Interpretación del método serológico:

La interpretación de la lectura de la prueba se realizó antes o al término de los 4 minutos. Se califica según al tipo de aglutinación que presente como: +, ++, +++, con una sola cruz que presentará de aglutinación ya se tomaba como positivo.

3.7.2 Principios del procedimiento:

El método para comprobar si un cerdo se encuentra infectado con *Salmonella choleraesuis* comprende la utilización de un reactivo que contiene antígeno de *Salmonella choleraesuis* específico de cerdo. Los resultados se someten a un método de interpretación cualitativo en donde las celdas de los animales infectados presentarán la formación de aglutinación indicando así un resultado positivo; por otra parte en los animales sanos se observará una mezcla sin aglutinación indicando un resultado negativo.

En cuanto a las muestras de sangre completa los resultados de la lectura eran diferentes ya que aquí se observaba la formación de un anillo y a este resultado se le tomaba como positivo y en ausencia del anillo se tomaba como negativo.

3.8 Estudio estadístico:

A los resultados obtenidos de las pruebas de aglutinación se les realizó un análisis estadístico para observar la correlación que existe entre los dos antígenos.

4. EXPLICACIÓN TOTAL

Se logró aislar y purificar las colonias típicas de género de *Salmonella* que fueron sembradas en placas de agar sangre; posteriormente se identificó con pruebas bioquímicas y se obtuvo los siguientes resultados:

| | EXPERIMENTAL | BIBLIOGRAFICO |
|-------------------|----------------------|----------------------|
| Gram, | Bacilo gram negativo | Bacilo gram negativo |
| H ₂ S, | Positivo | Positivo |
| Indol, | Negativo | Negativo |
| Motilidad, | Positivo | Positivo |
| Nitratos, | Positivo | Positivo |
| Urea, | Negativo | Negativo |
| Citratos, | Negativo | Negativo |
| MR, | Positivo | Positivo |
| VP, | Negativo | Negativo |

Una vez identificada la bacteria se preparó el medio de cultivo (líquido) y se sembró en 250 ml y se incubó durante 24 horas, después se realizó un pase a 18 litros y esta se incubó 72 horas en la estufa bacteriológica; con esta fermentación se obtuvo 26.38 gramos de biomasa, la cual se dividió en dos partes; una para tñirla con colorante de Azul de Coomassie y la otra parte con colorante de Rosa de Bengala.

En 495 cerdos se encontró que: con la aglutinación del antígeno con rosa de Bengala se obtuvo un porcentaje de 21.81 % de animales positivos y un 78.18 % de animales negativos; mientras que con el antígeno tñido con Azul de Coomassie se obtuvo un 23 % de animales positivos y un 76.17 de cerdos negativos. Con estos resultados se sacó la correlación que existía entre los dos antígenos, como se muestra en la Tabla 1; dándonos un 98.79% de correlación. Aclarando que solo se utilizaron muestras de suero.

Tabla 1: Resultados estadísticos.

| Rota de B | Puntos | Resultados | Azul de C. | Puntos | Resultados | N° Y | N° | N° |
|-----------|--------|------------|------------|--------|------------|--------|--------|--------|
| 50 | 4 | 200 | 42 | 4 | 168 | 33600 | 40000 | 28224 |
| 32 | 3 | 96 | 52 | 3 | 156 | 14976 | 9216 | 24336 |
| 31 | 2 | 62 | 26 | 2 | 52 | 3224 | 3844 | 2704 |
| 382 | 1 | 382 | 375 | 1 | 375 | 143250 | 145924 | 140625 |

NOTA: Los puntos equivalen a (-) = 1; (+) = 2; (++) = 3; (+++) = 4.

Evaluación de los antígenos en una granja con problemas de salmonelosis

Como segunda parte de los resultados; que se encontraron en la granja de Jilotepec de las 125 muestras de cerdos, se reporta en la Tabla 2 y 3, para estos resultados se trabajo con sangre completa y con suero; estos cerdos eran de diferentes etapas.

Con los resultados obtenidos en la granja se sacaron los porcentajes por cada etapa de crecimiento tanto positivos como negativos. Como se observa en la Tabla 2 son resultados con las muestras de sangre; en cuanto a la Tabla 3, se saco el porcentaje de muestras positivas y negativas; éstas muestras eran de suero.

Tabla 2: Porcentaje de muestras de sangre (25 cerdos de cada etapa):

| ETAPA | % DE POSITIVOS | % DE NEGATIVOS |
|-------------|----------------|----------------|
| PIE DE CRÍA | 80% | 20% |
| LACTANCIA | 28% | 72% |
| DESTETE | 32% | 68% |
| INICIACIÓN | 0% | 100% |
| ENGORDA | 80% | 20% |

Tabla 3: Porcentaje de muestras de suero (con 25 cerdos en cada etapa):

| ETAPA | % DE POSITIVOS | % DE NEGATIVOS |
|-------------|----------------|----------------|
| PIE DE CRÍA | 80% | 20% |
| LACTANCIA | 24% | 76% |
| DESTETE | 40% | 60% |
| INICIACIÓN | 0% | 100% |
| ENGORDA | 72% | 28% |

Por otra parte con los resultados de las muestras de sangre completa y suero se obtuvo la correlación que existe entre los dos antígenos; pero con muestras diferentes como se indica en la Tabla 4:

Tabla 4: Resultados estadísticos.

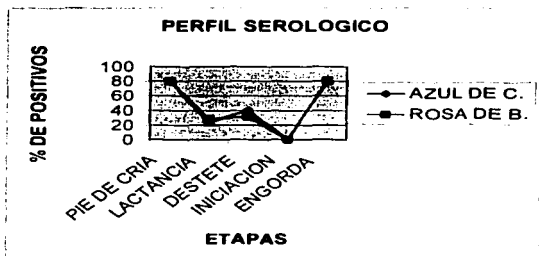
| Roca de B | Puntos | Resultados | Azul de C | Puntos | Resultados | X Y | X ² | Y ² |
|-----------|--------|------------|-----------|--------|------------|------|----------------|----------------|
| 17 | 4 | 68 | 26 | 4 | 104 | 442 | 289 | 676 |
| 19 | 3 | 57 | 20 | 3 | 60 | 380 | 361 | 400 |
| 18 | 2 | 36 | 9 | 2 | 18 | 162 | 324 | 81 |
| 71 | 1 | 71 | 70 | 1 | 70 | 4970 | 5041 | 4900 |

Con los resultados obtenidos de la tabla 4 se obtuvo una correlación del 98,92%; con esto nos indica que es muy buena la correlación que existe entre los dos antígenos, tanto con sangre completa como con suero.

Perfil serológico

Por otro lado con los resultados estadísticos obtenidos en la Tabla 4 se sacó un perfil serológico para observar mejor la diferencia que presentan estos dos antígenos.

Gráfica 1: Perfil serológico.



Como se observa en la Gráfica 1 no hay diferencia significativa al utilizar cualquiera de los dos antígenos, por lo cual se puede decir que se puede utilizar uno u otro colorante.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

5. DISCUSION

La *Salmonella choleraesuis* raramente se involucra en problemas de humanos, cuando lo hace estos tienden a ser de gran severidad. El problema se agrava porque los cerdos pueden infectarse en los corrales del matadero y porque la maquinaria del rastro puede también contaminarse (Morilla, 1994).

Debido a esto es importante que los veterinarios y porcicultores estén concientes de este problema y realicen un esfuerzo intenso por identificar a los reactores y fuentes de contaminación con el propósito de eliminarlos (Castillo y cols, 2001 a,b,c,d).

En los cerdos; la *Salmonella choleraesuis* se encuentra relacionada con infecciones gastrointestinales. Por ahora se dispone de poca información en que etapa se encuentran mas predisponibles los lechones (Castillo y cols, 2001 a,b,c,d).

Estudios realizados sugieren que para el diagnóstico de salmonelosis en cerdos, es fácil detectarlos por métodos serológicos como ELISA (Nielsen y cols, 1998b) los resultados obtenidos con la prueba de ELISA, se pueden corroborar con otras pruebas como por ejemplo, cultivos de heces fecales.

Hoy en día la serología juega un papel importante en el control de las enfermedades ya que cuando se efectúa se puede determinar que animales están colonizados por microorganismos potencialmente patógenos, dado que en la mayoría de los casos los animales pueden ser portadores asintomáticos del agente causal infectando al animal sin causarle la enfermedad y la inmunidad que induzca no sea absoluta pudiendo colonizar a otro animal sin causarle la enfermedad. (Torres, 1995).

Por este motivo en la actualidad se recomienda el empleo de perfiles serológicos , o también llamados seroperfiles los cuales se basan en la detección de que porcentaje de animales están enfermos y cuantos portadores sanos existe para establecer medidas de control de las infecciones y posteriormente en un plazo de 3 a 6 meses se recomienda realizar un perfil serológico con el fin de evaluar si las medidas de control tomadas son efectivas o de lo contrario tomar otras que complementen las ya establecidas (Morilla, 1994).

En el caso de un cerdo infectado con *Salmonella choleraesuis* el suero del animal contiene anticuerpos específicos que reaccionan con los antígenos presentes en el reactivo, produciendo una aglutinación caracterizada por la aparición de grumos en la mezcla indicando un resultado positivo (Castillo y cols, 2001 a,b,c,d).

Con las 495 muestras de suero se llevó a cabo la prueba de aglutinación con los dos antígenos teñidos esto se realizó para comparar los dos antígenos con solo muestras de suero y observando los resultados se puede decir que casi no hay diferencia entre los dos y podríamos decir que es lo mismo trabajar con un antígeno o con otro; ya que el porcentaje de positivos con Rosa de Bengala es de 21.81% y el porcentaje de positivos con el antígeno teñido con Azul de Coomassie es de 23.83% con esto se observa que no es significativa la diferencia de porcentajes entre los dos antígenos; por otra parte eran las mismas muestras las que me daban positivas o negativas.

Para poder corroborar bien estos resultados se sacó la correlación que existe entre los dos antígenos trabajados, obteniéndose un 98.79 de correlación "muy buena", además de demostrar que no existe mucha diferencia entre los dos para trabajarlos con muestras de suero.

Como tercera parte se trabajaron los dos antígenos en un estudio de campo, donde se llevo a cabo un muestreo en la granja de Jilotepec ubicada en el Estado de México, se trabajaron con 125 cerdos de diferentes etapas con 25 cerdos en cada etapa utilizando muestras de sangre en el caso del antígeno de Azul de Coomassie y suero para el antígeno de Rosa de Bengala.

Al realizarles la prueba de aglutinación a las muestras de sangre, se presentó la formación de un anillo; esté se formaba al llevarse a cabo la reacción Ag-Ac; la presencia del anillo es al mezclar el antígeno teñido con Azul de Coomassie y sangre completa; (se menciona que los glóbulos rojos quedaban en el centro mientras que los anticuerpos y los antígenos formaban una red alrededor de los glóbulos rojos). La presencia del anillo se tomaba como una muestra positiva; si no existía la formación del anillo se tomaba como negativa la prueba. No existía coagulación de las muestras de sangre en el momento de la reacción porque el antígeno con los reactivos que se preparó actuaba al mismo tiempo como anticoagulante.

Como ya se menciona los reactores positivos eran las muestras que formaban el anillo; al obtener estos resultados se concluye que es porque los cerdos se encuentran infectados y presentan anticuerpos contra *Salmonella choleraesuis* por está razón se menciona que los cerdos ya presentaban la patología, o eran positivos a Salmonelosis.

En las muestras de suero, las pruebas positivas eran la formación de grumos después de cierto tiempo, al llevarse a cabo la reacción Ag-Ac; y la interpretación de esta prueba se tomaba como sigue: son positivos los sueros de animales que presenten cualquier grado de aglutinación y son negativos aquellos que no muestren aglutinación. Con los resultados obtenidos se dice que en la granja existe o no la presencia de *Salmonella choleraesuis*. (Juárez., 2002).

En los resultados de la prueba de aglutinación se observa, en la etapa de lactancia utilizando sangre era de 28% y con suero era de un 24%, por otra parte en la etapa de destete con sangre es un 32% de positivos y con suero un 40%; en la etapa de iniciación nos dio un 0% de positivos con sangre y con suero; en la etapa de engorda presento un 80% de positivos con sangre y con suero un 72% y por último en la etapa de pie de cria con sangre fue de un 80% y con suero también un 80%; con esto se puede decir que se puede trabajar con los dos, solo que una desventaja es que el antígeno teñido con Rosa de Bengala es un poco mas laborioso por la obtención del suero y con el otro antígeno no; ya que se puede realizar en la misma granja (Castillo y cols, 2001 a,b,c,d).

A los resultados obtenidos se les saco la correlación que existía entre los dos antígenos y es de un 98.92%, lo cual nos dice que es muy buena; por lo que se ve con estos resultados son parecidos los porcentajes por esta razón se menciona que se puede trabajar con un antígeno como con otro.

Por otra parte en los trabajos previos realizados por este grupo de trabajo se demostró que la prueba de aglutinación tiene una sensibilidad del 84 % y una especificidad del 95% (Ciprian y cols, 2002); (Castillo y cols, 2002).

Por último se realizó un perfil serológico con los dos antígenos y se observa experimentalmente que en los cerdos de pie de cria existe un alto porcentaje de infección en las madres; mientras que en lactancia disminuye el porcentaje esto puede ser por los anticuerpos que las madres les proporcionan por medio del calostro o la leche; en la etapa de destete aumenta un poco la presencia de animales infectados con Salmonelosis, esto puede ser porque ya se están perdiendo los anticuerpos transferidos de la madre; y en la etapa de iniciación es cuando no hay presencia de Salmonelosis porque en esta etapa empiezan a infectarse los animales; por otra parte en la etapa de engorda aumenta significativamente la infección por *Salmonella choleraesuis*; por último se encontró que es similar la infección tanto en madres (pie de cria), como en cerdos de engorda.

En la gráfica 1 se realizó para el perfil serológico y se observa el comportamiento de los dos antígenos, está presenta la mínima diferencia que existe entre las dos tinciones, con el perfil se puede seguir corroborando que la utilización de los antígenos puede ser tanto el que se encuentra teñido con Rosa de Bengala como el que esta con Azul de Coomassie. Este perfil serológico es transversal por que se muestrearon un grupo de animales de las diferentes etapas; como se muestra en la grafica .

Para poder establecer los perfiles serologicos a nivel de campo es recomendable contar con pruebas rápidas de diagnóstico que permitan obtener resultados confiables para que el Medico Veterinario establezca las medidas preventivas adecuadas (Torres, 1995).

Los antígenos preparados de *Salmonella choleraesuis* presentan ciertas ventajas sobre otras pruebas de laboratorio ya que permite obtener resultados confiables en un mínimo de tiempo, no requiere equipo sofisticado, ni de personal calificado para poder realizar las pruebas permitiendo saber si se encuentran presentes en las granjas la infección y poder establecer programas de control como son la vacunación contra los serotipos presentes en cada granja y poder erradicar la enfermedad (Castillo y cols, 2001 a,b,c,d).

En diferentes zonas muestreadas en Tuxtla Gutiérrez, la tasa de prevalencia y distribución proporcional fue alta ya que encontraron la presencia de anticuerpos contra *Salmonella choleraesuis*. Por esta razón se debe implementar mejores medidas de manejo y sanidad se podrá reducir la presencia de dicho agente infeccioso (Salvatierra y cols, 2001); (Salvatierra y cols, 2002).

Para que un programa de control sea efectivo debe existir un compromiso por parte de los distintos segmentos que participan en la producción de ganado.

El control de *Salmonella* a nivel de granja no radica en la implementación de una única medida sino en la aplicación constante y a largo plazo de una serie de medidas de los porcícolas (W.Scöll y cols, 1984).

El monitoreo serológico en los canales de México debe ser mejorado, aunque presenta muchos problemas, ya que se ocupa mucha agua para lavarles los corrales y para desinfectar los bebederos se debe realizar con agua caliente, por otra parte se puede llevar un control utilizando algunas vacunas o medicamentos; pero se debe tener cuidado porque *Salmonella* con las vacunas puede causar resistencia.

En Estados Unidos se realizan muestreos en el rastro, para llevar a cabo dicho muestreo utilizan una prueba serológica comercial que es la de ELISA (MIX-ELISA), esta prueba consta de un antígeno de superficie de *Salmonella* y así es posible detectar muestras de suero en un tiempo de 3 a 4 horas obteniendo una correlación alta; aumentando los porcentajes de positivos con infección a *Salmonella* y niveles altos de anticuerpos (Nielsen, 1998b).

Las pruebas de MIX-ELISA son económicamente elevadas; por lo que en algunas granjas de la Ciudad de México no se puede realizar dicha prueba ya para realizar el monitoreo se necesita capital, y México no la tiene. Mientras tanto la prueba de aglutinación en placa es rápida, sencilla, específica y sensible para *Salmonella choleraesuis*, además de que es económicamente barata al lado de una prueba de ELISA; aunque podrían presentar parecidos los resultados.

La prueba de aglutinación en placa con el antígeno de *Salmonella choleraesuis* necesita de mas estudios, ya que se tendrá que infectar animales para realizar el estudio en forma experimental y así validar la prueba.

6. CONCLUSIONES

- Se obtuvo el antígeno de *Salmonella choleraesuis* para ser valorado en el diagnóstico de Salmonelosis en cerdos de granja.
- El acondicionamiento de la biomasa con los dos colorantes utilizados, fue exitoso.
- La técnica de aglutinación en placa es un método satisfactorio como prueba serológica.
- Se obtuvieron resultados satisfactorios, para detectarse anticuerpos contra *Salmonella*; con la prueba de aglutinación en placa.
- El antígeno de *Salmonella choleraesuis* presenta buenas expectativas para el diagnóstico rápido de Salmonelosis en cerdos.
- Se sugiere que este estudio preliminar se continúe valorándose con otras *Salmonellas* y se demuestre su especificidad.

7. REFERENCIAS

- ❖ Baum, D.H.; Harris, B; Nielsen, B. (1998). Risk factors associated with increased seroprevalence of *Salmonella* in finishing swine. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 79.
- ❖ Baum, D.H.; Harris, B; Nielsen, B; Fedorka-Cray, P.J. (1998a). Epidemiologic studies of *Salmonella* in swine using culture and ELISA. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 75.
- ❖ Baum, D.H; Harris, D.L. Roof, M.B; Nielsen, B. (1998b). Use of SC54 for the reduction of *Salmonella* in swine. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 124.
- ❖ Blaha, Th. (1998) The international pork market and the control of zoonotic *Salmonella* in the pork chain. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 66.
- ❖ Blaha,Th; Li, A. Carlson (1998). Subtyping of zoonotic *Salmonella* from porcine source as epidemiological tool. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 65.
- ❖ Blanc, P.A., Solomon, F., Kayser,J. (1999). The SPI-3 pathogenicity island of *Salmonella enterica*. Journal Bacterioly. 181: 998-1004.
- ❖ Bernard D.D. (1983). Tratado de Microbiología "Con inclusión de inmunología y genética molecular, editorial Barcelona, segunda edición , pp: 797-801.
- ❖ Borrego, J.J; Castro, D; Jiménez, N.M; Luque, A. (1992). Comparison of epidemiological markers of *Salmonella* Strains isolated from diferents sources in Spain. Journal Clinical Microbiol. No. 30; pp: 3058.
- ❖ B. Boswordht and T. Stabel. (1998). Alimentary disease and bacteria after weaning Proceedings of the 15th IPVS. Congress, Birmingham . England, pp: 63-65.
- ❖ Buxton, A. y Frasse, G. (1977). Salmonellosis in pork. Animal Microbiology. Vol.1. Blackwell.103-116.
- ❖ Carlson, A. Blaha, Th. 1998. Investigations into the on-farm contamination-infection cycle of zoonotic *Salmonella* in Pigs. Proceedings of the 15th IPVS Congress, University of Minnesota, College of Veterinary Medicine. Pp. 94

- ❖ Carreón N.R, Rodríguez . G. M. (2001). Interacción del síndrome respiratorio y reproductivo del cerdo (PRRS) y *Salmonella choleraesuis*, Memorias XXXVI Congreso AMVEC de Querétaro. pp:48.
- ❖ Castillo C.J; Ciprian, C.A; Alonso, H.R; Domínguez, A.M. (2001) Preparación de un antígeno de *Salmonella choleraesuis* para el diagnóstico de salmonelosis en cerdos. Memorias XXXVI Congreso AMVEC de Querétaro. pp:49.
- ❖ Castillo C.J; Mendoza, E.S; Alonso, H.R; Oliva, M.D; Vargas, S.A. (2001). Evaluación del antígeno de *Salmonella choleraesuis* para el diagnóstico de salmonelosis en cerdos en una granja. Memorias XXXVI Congreso AMVEC de Querétaro. pp: 50.
- ❖ Castillo C. J., Ciprian C.A; Alonso, H.R; Oliva, M.D.(2001). Preparación del antígeno de *Salmonella choleraesuis* para evaluar la salmonelosis en cerdos. Memorias (Reunión Científica) XXXVII Reunión nacional de investigación pecuaria (Chiapas). pp: 155.
- ❖ Castillo C. J., Mendoza, E.S; Alonso, H.R; Domínguez, A.M. (2001). Muestreo en granja de cerdos para evaluar el antígeno de *Salmonella choleraesuis* en el diagnóstico de salmonelosis. Memorias (Reunión Científica) XXXVII Reunión nacional de investigación pecuaria (Chiapas).pp:154.
- ❖ Castillo, C. J; Hernández, B.E; Vargas, S.A; Mendoza, E.S, (2002). Evaluation of a newly ring test for the serology diag of Salmonellosis in a farm. Proceedings of the 17th IPVS congress Ames, IOWA USA, pp: 530.
- ❖ Castillo, C. J; Ciprian, C.A; Hernández, B.E; Domínguez, A.M. (2002). Antigen from *Salmonella choleraesuis*. Diagnostic serologic test in pigs. Proceedings of the 17th IPVS congress Ames, IOWA USA, pp: 532.
- ❖ Charles M. Scanlan. (1991) Introducción a la Bacteriología Veterinaria, editorial Acribia, Zaragoza España, pp: 97-102, 415-418.
- ❖ Christensen, J; Baggesen, D.L and Svensmark. (1998). Detection of *Salmonella enterica* in follow-up pen samples in pig herds with moderate or high seroprevalence. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 71.
- ❖ Ciprian, C.A; Castillo, C. J; Alonso, H.R; Domínguez A.M; Oliva, M.D. (2002). Validación de una prueba de anillo de *Salmonella choleraesuis*, para el diagnóstico serológico en granjas. Memorias XXXVII Congreso AMVEC de Puerto Vallarta; pp: 128, 129.

UNIVERSIDAD DE CALIFORNIA
LIBRARY

- ❖ Dahl, J. (1998a). Cross-sectional epidemiological analysis of the relations between different herd factors and *Salmonella*-seropositivity. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 280.
- ❖ Dahl, J. (1998b). The relation between *Salmonella*-shedding and the Danish *Salmonella*-MIX-ELISA on the pig level. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 279
- ❖ Dahl J, (1998c) The effect of feeding non-heat treated, non-pelleted feed compared to feeding pelleted, heat treated feed of *Salmonella*-seroprevalence of finishing pigs Proceeding 15th IPVS Congress, Birmingham, Federation of Danish Pig Producers and Slaughterhouses pag. 125.
- ❖ Dahl, J; Wingstrand, A. (1998). The effect of dietary administration of an organic acid preparation on *Salmonella* seroprevalence. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 126
- ❖ Damman, D. J; Bahnson, P.B; Isaacson, R.E; Kim, J.Y. (1998). Evaluation of *Salmonella* spp. prevalence on Illinois USA. Swine farms. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 77.
- ❖ Darwich, I.; Mateu, E.; Martín, M. (1999) Salmonelosis porcina en España. Aparición de cepas con perfiles de multiresistencia a los agentes antimicrobianos. Anaporc, 1995: 5'16.
- ❖ Davies, P.R; Funk, J.A; Jones, F.T. (1998). *Salmonella* serotypes in a multiple-site production system. Proceeding of the 15th IPVS congress. Birmingham, England, pp: 72.
- ❖ Difco Manual, (1985) Dehydrated culture medio and reagents for microbiology; reprinted 10th edition, Difco Laboratories. Detroit Michigan USA. pp: 772-837.
- ❖ D. C. Hirsh (1994) Tratado de Microbiología Veterinaria. Editorial Acribia, Zaragoza España . pp: 105-109; 119-124.
- ❖ Díaz Rayo Concepción. (1987). Salmonelosis, Síntesis Porcina. Departamento de producción animal; Cerdos, FM.V.Z.- UNAM; pp: 286-287.
- ❖ Emborg, H. D; Mogelmoose, V; Nielsen, B. (1998). Status of the Danish *Salmonella* surveillance programmed of slaughter pig herds. Proceeding of the 15th IPVS congress. Birmingham, England, pp: 76.

- ❖ Fedork, C; Marssa M and Linda, T. (1998). Development of resistance in *Salmonella* isolates of veterinary Origin. American Association of Swine Practitioners. 29th Annual Meeting . march 7-10, Des Moines . Iowa, pp: 173,175.
- ❖ Fedorka, C.P.J; S.C.Whipp, and K. Larger. (1994). Transmission of *Salmonella . typhimurium* to swims. Veterinary Microbiology. 41 pp: 333-344.
- ❖ Ferris, K., and D.A.Miller. (1990). *Salmonella* serotypes from animals and related sources reported during. Ames, IOWA; Natural veterinary services Laboratories pp: 463-478.
- ❖ Ganter, M; Müller, K. Tegeler, R.; and Friedel, K. (1998). Prevalence of *Salmonella* in finishing pigs of northwest Germany. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 70.
- ❖ Graham S. W; Ashley Miles. (1975). *Salmonella*. Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. 6th in two volumes; Edward Arnold; Printed in great Britain by butler; pp: 918-955.
- ❖ Gray , J.T., Fedorka-Gray, P.J., Stabel, T.J. and Kramer, T.T. 1996. Natural Transmission of *Salmonella choleraesuis* in Swine. Applied and Enviromental Microbiology. Vol. 62. No.1. pp.141-146.
- ❖ Gerhardt, P., Murray, R.G.E. et al., (1981). Manual of Methods for General Bacteriology. American Society for Microbiology. Washington; pp: 630-636.
- ❖ Gresham, A.C.J; Dalziel, R.W. (1998). Treatment of swine dysentery – problems of antibiotic resistance and concurrent Salmonellosis. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 142.
- ❖ Heard.T.W.,and A.H. Linton.(1996). An epidemiology study of *Salmonella* in a closed pig Herd. Veterinary Record. Cam.pp411-417.
- ❖ Heijden, H.J.F; Bolcij. P.H.M; Loeffen, W.L.A; Bongers, J.H. (1998). Development and validation of an indirect ELISA for the detection of antibodies against *Salmonellae* in swine. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 69.
- ❖ Hinton, M.H., A.M. Zuhar, and A.H. Linton. (1984) *Salmonella* carriage by naturally –infected unweaned calves and broiler chicks. Journal Science. Food Agriculture. pp:635.
- ❖ Jawetz E. MD, PHD. (1996) Microbiología Médica. Editorial el Manual Moderno. 15ª edición. México DF. pp. 249-263.

- ❖ Juárez I.M. (2002) Obtención de un antígeno de *Pasteurella multocida* de tipo "A" de conejo. Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, pp:26-30.
- ❖ Kathleen M; Claussen, BS; Doreenc R (1998). Effects of subtherapeutic antibiotics cycline susceptible and resisten *Salmonella* spp. Experimentally inoculated into pigs. American Association of Swine Practitioners. 29th Annual Meeting . march 7-10, Des Moines , Iowa, pp: 23-26
- ❖ Kavanagh, N.T. (1998). Antibiotic resistance patterns of *Salmonella* isolates from pigs in Ireland. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 282.
- ❖ Kolb, J.R; D.V.M; Roof, M.B. (1998). Reduction of *Salmonella* species contamination of swine carcasses utilizing vaccination with an avirulent live *Salmonella choleraesuis* vaccine (SC-54) at placement in grower/finisher. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 74.
- ❖ Leman A.D; Strain Barbara.(1986) Salmonellosis. Diseases of swine. Sixth edition. Iowa State University press, Ames IOWA, USA, pp:508-518.
- ❖ León Le Minor., Rohde, R., Taylor, J. (1970). Nomenclature des *Salmonella*, Annals de l' Institut Pasteur 119, pp: 1148-1159.
- ❖ Linton,A.H., T.W.Heard,J.J. and P.Pollard (1970) Computerbased analysis of epidemiological data arising from Salmonellosis in pigs. Veterinary Microbiology 41 pp: 523-532.
- ❖ Lundberg, U., Vinatzer, U., Berdnik, D. (1999) Growth phase-regulated induction of *Salmonella*-induced macrophage apoptosis correlates with transient expression of SPI1 genes. J. Bacteriol. 181: 3433-3437.
- ❖ Matcu, E; Martin, M. (1999) Antibiotic resistant *Salmonella* in pigs in Spain. Veterinary Record, pp:144: 80.
- ❖ Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. (1998) Kingdom of Spain. National Mark for Actions in Combating Classical Swine Fever. Standing Vet. Committee.
- ❖ Mittal, K.R., Higgins, R.; Lariviere, S., Lebnack, A. (1984) A 2 mercaptoethanol tube agglutination test for the diagnosis of *Haemophilus pleuropneumoniae* infection in pigs Am. J. Vet. Res. 45: 715-719.

- ❖ Morilla, G. A. (1994). Los Seroperfiles en la Clínica Porcina, Acontecer Porcino, VII-9, pp: 65-74.
- ❖ Nielsen, B. (2001). *Salmonella* Control in Swine, Food Safety Perspectives and impact on the swine industry, Memorias XXXVI Congreso AMVEC de Querétaro pp: 16-26
- ❖ Nielsen, B; Sorensen, L.L; Mogelmosse, V; Dahl, J. (1998a). Eradication of multi-resistant *Salmonella typhimurium* DT 104 infections in Danish swine herds. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 80.
- ❖ Nielsen, B., Sprensen, L.L., Mogelmosse, V., Dahl, J., and Wingstrand, A. (1998b). Eradication of multi-resistant *Salmonella typhimurium* DT104 infections in Danish Swine Herds. Proceedings of the 15th IPVS Congress, Birmingham, England, 5-9 July. Pp. 80.
- ❖ Noel, R. K; Holt, J. G; (1984) Berger's Manual of systematic bacteriology, volume 1, edit. Board Williams & Wilkins. Baltimore / London; United States of America; pp: 427-457.
- ❖ Otto H. Siegmund. (1981) El manual Merck de veterinaria. 2ª edición en español. MERCK, RAHWAY, USA. pp:245-249.
- ❖ Pearce, G.P.; Revitt, D. (1998). Prevalence of *Salmonella* excretion in grower-finisher pigs in the uk. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 233.
- ❖ Peréz, G.E. (1993). Una prueba serológica para el diagnóstico de la neumonía crónica del cerdo producida por *Pasteurella multocida* tipo "A". Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, pp:39-43.
- ❖ Pérez, J.; Astorga, R.; Carrasco, L.; Méndez, A. (1999) Outbreak of Salmonellosis in farmed European wild boars. Veterinary Record, 145: 464-465.
- ❖ Pijoan, A.C; Ramírez, N.R. (1982), Diagnóstico de las enfermedades del cerdo, editores Pijoan Anguade Carlos y Ramiro Ramirez Necochea Primera edición. pp:491-493.
- ❖ Pless, P. and Köfer, J. (1998). *Salmonella* screening of styrian slaughter pigs as a basis of an integrated *Salmonella* Surveillance and control programme. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 127.

- ❖ Prohaska, B. M. Jayaroo, B. M; Fabian, A; Kovacs, S. (1990). The role of intestinal volatile fatty acids in the *Salmonella* shedding of pigs. Journal of Veterinary Medicine. Vol. 37; pp:570-574.
- ❖ Robbie Mc Cracken; Julia O' Carrol and Julie Funk (1997). *Salmonella* Shedding by sows and suckling piglets. American Association of Swine Practitioners. 28th Annual Meeting March 1-4., Quebec. pp: 297-298.
- ❖ Salvatierra R.M.E., Mendoza, E.S; Milo, A.R; Castillo, C.J; Díaz, G.M. (2001). Memorias (Reunion Científica) XXXVII Reunion nacional de investigación pecuaria (Chiapas). Determinación de la seroprevalencia de *S. choleraesuis* en cerdos de traspatio en Tuxtla Gutiérrez. Chiapas, pp: 40.
- ❖ Salvatierra R.M.E; Milo, A.R; Castillo, C. J, Mendoza, E. S. (2002). Seroprevalencia de *Salmonella choleraesuis* en cerdos de traspatio en Chiapas, México. Memorias, XXXVII Congreso AMVEC de Puerto Vallarta, pp: 106,107.
- ❖ Schwartz, K. J. (1990) Salmonellosis in midwestwrn swine, In Proceedings of the 94th. Annual Meeting of the U.S. Animal health Association, pp:443-449.
- ❖ Sojka, W.J. (1979): En Memorias del 1º Curso Latinoamericano de Enfermedades Gastrointestinales del cerdo -INIP-ALVEC-ENEP-C (México).
- ❖ Stege, H., Stryhn, H., Baggesen, D.L., Christensen, J., and Nielsen, J.P. 1998. Prevalence and Diversity of *Salmonella* Serotypes isolated from feed samples collected from the cribs in 96Danish pig Herds. Proceedings of the 15th IPVS Congress, Danish Veterinary Laboratory, p.p:95.
- ❖ Straw, B.E; Silvie, D. William, L.A. Taylor, D.J, (1999). Salmonellosis. Diseases of swine. IOWA State University Press. 8th edition. Ames IOWA, USA, pp: 535-551.
- ❖ Taylor, D.J. (1979): Pigs Diseases. 6th edition, published by the author Lennoxtown, Glasgow. pp: 61-63.
- ❖ Thomas, P.(1977): pigs Diseases Veterinary. Bull. Vol. 47, pp: 731.
- ❖ Torres, A.O.(1995) Estudio microbiológico de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y serológico con pleurotest serotipos 1,2,3,5,7 y 9 con muestras obtenidas del rastro. Tesis de licenciatura. FES-Cuautitlan.

- ❖ Wahlström, H; Bergström, K. and Engvall, A. (1998). The Swedish *Salmonella* control of pig and pork production. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 73
- ❖ Wilcock, B.P. and K. Scharwartz. (1992). *Salmonellosis Diseases of Swine* 7th. editorial Iowa State University Press, Ames. pp: 570-583.
- ❖ Wingstrand, A; Baggesen, D. L; Thomsen, L. K. (1998). Bacteriological and serological characterization of pigs from 25 serologically identified “*Salmonella* High Risk” herds. Proceeding of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp: 67.
- ❖ W.Scöll, Ilka Itahn. Et al (1984). Utilización de vacunas contra *Salmonelosis* de animales domésticos en el marco de la concepción de lucha y saneamiento, Medicamentum, pp: 5-11.
- ❖ Wolfgang K. Joklik, Zinsser (1993). *Salmonellosis*. Microbiología. 18^a edición. editorial Médica Panamericana, Buenos Aires. 712-717.
- ❖ Wolf, P.J; Elbers, A.R. W; Wolbers, J.M.C.C; (1998). Riskfactors for *Salmonella* in slaughter-pigs in the Netherlands. Proceeding of the 15th IPVS congress. Birmingham, England, pp: 68.