



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

COMPARACIÓN DE TRES TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO
PARA *Salmonella choleraesuis* EN SUEROS DE CERDOS
LOCALIZADOS EN DIFERENTES GRANJAS DEL PAÍS.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A :
CLAUDIA ALEJANDRA CIBRIAN ARENAS

ASESORES:

DR. SUSANA E. MENDOZA ELVIRA

DR. ABEL CIPRIAN CARRASCO

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO.

2005



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Claudia Alejandra

Cabrera Arencibia

FECHA: 13/Sept/05

FIRMA: 



GOBIERNO NACIONAL
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

**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
EXAMENES PROFESIONALES

**DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E**

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:

Comparación de tres técnicas de Diagnóstico Serológico para

Salmonella choleraesuis en sueros de cerdos localizados en
diferentes granjas del País.

que presenta la pasante: Claudia Alejandra Cibrian Arenas

con número de cuenta: 9950868-5 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 15 de Agosto de 2005

PRESIDENTE

MVZ. Gerardo Cruz Jiménez

VOCAL

QFI. Andrea Becerril Osnaya

SECRETARIO

QFB. Juan Chiu Chan

PRIMER SUPLENTE

Dra. Susana Elisa Mendoza Elvira

SEGUNDO SUPLENTE

QFB. René Darián Santos

AGRADECIMIENTOS.

A DIOS Y A MIS PADRES.

Mis padres me dieron la vida y Dios me dio la nobleza, a mis padres doy amor y ternura y a mi Dios devoción y fé, si por ellos existo por ellos triunfaré.

A Dios por haberme dado una familia en donde estar día con día, por haberme puesto a Sabino y a Teresa en sus manos.

Gracias, simplemente por darme la vida, por estar a mi lado en todo momento, por el hogar que siempre me dieron, por esa lucha constante para no faltar nada en casa, por tratar de ser los mejores papas, por darnos lo mejor que pudieron, por mi formación personal, como mujer y profesionista.

Este pequeño trabajo es dedicado a ustedes por su apoyo incondicional, por su cariño, paciencia, motivación y sobre todo su amor, mil gracias. Lo que ustedes papitos han hecho por mi nunca se los podré pagar pero si agradecerélos eternamente los AMO.

A MIS HERMANOS

Ernesto, Memín y Nino por su paciencia, por soportarme todas y cada una de mis locuras, por estar siempre a mi lado, por ayudarme durante todo el tiempo, por todo los momentos que pasamos juntos.
LOS AMO

A Ernesto: por ser mi amigo incondicional, mi confidente y mi alcahuete, por todo el tiempo que disfrutamos. Gracias hermanito tu confianza es muy importante y por darme una sobrina muy linda.

A Memín: por tus ocurrencias, por tu sonrisa, por tus soluciones que das, por ser el más espojaquito y abrazable de la familia.

A Nino: por ser el más cayado, por tus comentarios fuera de serie, por ser el más miedoso de la familia y por ser el menos enojon.

A MI ESPOSO

Porque llegaste en uno de los momentos más difíciles para nuestra familia, por ser un hombre lleno de cualidades y virtudes. Por tu paciencia, motivación, ayuda, por aguantar todas mis locuras. Por salir adelante juntos tomados de las manos en los obstáculos que se nos presentan. Gracias por tus detalles, abrazos, besos y caricias Gordito TE AMO. Gracias a ti soy la mujer más feliz por la dicha de tener un bebe en mi vientre.

A MI DEBE

A ese pequeñito que se encuentra dentro de mi vientre creciendo lleno de vida, tranquilidad y pureza; por la felicidad que me diste cuando supe que venias en camino, desde ese momento eres lo más importante y mi razón de existir, mi más grande motivación; Gracias por tus movimientos que me dicen lo que tienes y la ansiedad que me da por tenerte en mis brazos, seguirte diciendo cuanto te deseo, y TE AMO.

A MI TIO PEPE †

Te agradezco de todo corazón todos y cada uno de los consejos que me diste. Por darme la oportunidad de ser la última en despedirme de ti, te sigo y te seguiré extrañando, recordándote por siempre.

A MIS ABUELIROS †

Ernesto y Lofa. Gracias por darme la oportunidad de quererlos de estar a su lado y por haberlos tenido un buen tiempo con nosotros.

Fernando. Gracias por tu nobleza, por abrazarme, por ayudarme durante toda mi vida, por ser un el mejor abuelito, cariñoso y por todas tus enseñanzas, por ser un gran hombre.

A MI ABUELITA ESPERANZA

Por ser una abuelita muy dulce, por tu confianza, por tu ayuda constantemente, por darme una mamá como la que tengo, por tus consejos, por tus comentarios, por tu cariño incondicional.

A MI FAMILIA

Gracias a todos mis tíos y primos por sus regaños y motivación durante la carrera.

Gracias a la familia; Arenas Cibrán, Arenas Guzmán y Fregoso Hernández por su apoyo y cariño constante.

A LA DOCTORA SUSANA E. MENDOZA

Gracias por toda su ayuda, apoyo, confianza, atención, comprensión, paciencia y cariño incondicional en todo momento, por ser mi Madre Académica, por tenderme su mano, y brindarme su amistad.

Gracias por su gran ejemplo intachable a seguir, su enorme trabajo y esfuerzo realizado en su vida y en el Laboratorio. Por lo que la caracteriza un gran ser humano.

AL SR. GABINO Y PROFE DAVID

Gracias por su amistad, consejos, motivación, confianza y ayudarme en todo momento durante mi trabajo en el laboratorio. Por escucharme en momentos difíciles.

A MIS AMIGOS

Itzhel, Alma, Octavio, Valdimir, Angel, Abraham, Braulio, Mayra, Claudia, Adriana, Olga, y a los chicos de la generación 25.

Gracias por todo lo que he recibido de ustedes sonrisas, confianza y buenos momentos.

Mimis Gracias por ser como una hermana, por brindarme toda tu amistad, cariño y confianza incondicional, por todos y cada uno de los momentos que pasamos, las sonrisas, la tristeza, el desaliento, las lagrimas, los planes realizados, las locuras, ocurrencias, alucines, la felicidad, por levantarnos juntas en momentos difíciles.

Gracias a todas aquellas personas que me brindaron su apoyo directa e indirectamente durante todo mi desarrollo profesional.

AL DOCTOR ABEL CIPRIAN

Gracias por su ayuda en la realización del Proyecto y asesorías.

AL DOCTOR FRANCISCO ROSALES

Gracias por su apoyo técnico en relación con los sueros.

A MIS SINODALES

SUSANA MENDOZA, GERARDO CRUZ, ANDREA BECERRIL, JUAN CHIU, RENE DAMIAN.

Gracias por su tiempo y apoyo en la revisión de tesis, por sus atenciones y conocimientos resividos.

INDICE

RESUMEN	i
TABLAS	ii
GRAFICAS	ii
ABREVIATURAS	iii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Generalidades	1
1.2 Historia	2
1.3 Etiología	3
1.4 Transmisión	5
1.4.1 Ingestión	6
1.4.2 Cerdos Portadores	6
1.5 Signos y Síntomas	8
1.5.1 Septicemia	8
1.5.2 Forma Entérica Aguda	8
1.5.3 Forma Entérica Crónica	9
1.6 Patogenia	10
1.7 Factores de Virulencia	11
1.8 Lesiones	12
1.8.1 Lesiones Entéricas	13
1.8.2 Lesiones Viscerales	13
1.8.3 Lesiones Septicemicas	13
1.9 Diagnóstico de Laboratorio	14
1.10 Diagnóstico Bacteriológico	15
1.11 Diagnóstico Serológico	17
1.12 Tratamiento	19
1.13 Inmunización	20
1.14 Control	23
1.14.1 Control de Salmonella a nivel de granja	23
1.15 Problema de Salud Publica	26
1.16 Justificación	27
Hipótesis	27
2. OBJETIVOS	28
2.1 Objetivo General	28
2.2 Objetivos Particulares	28

3. MATERIAL Y METODOS	29
3.1 Ceba	29
3.2 Aislamiento	29
3.3 Identificación	29
3.4 Preparación de Antígeno de <i>Salmonella choleraesuis</i>	29
3.5 Evaluación de los sueros	31
3.6 Técnica de Serotipificación	31
3.7 Técnica de aglutinación en placa con SSF y 2-ME	32
4. RESULTADOS	33
5. DISCUSIÓN	38
6. CONCLUSIONES	44
7. REFERENCIAS	45

TABLAS

Tabla 1: Resultados de las pruebas Bioquímicas	33
Tabla 2: Resultados de las tres técnicas de Diagnóstico Serológico	33

GRAFICAS

Grafica 1 : Resultado de las tres técnicas	34
Grafica 2: Técnica de 2-Mercaptoetanol	34
Grafica 3: Técnica de Serotipificación	35
Grafica 4: Técnica de aglutinación con SSF	35
Grafica 5: Sueros (+) ,(-) y en porcentaje en la Técnica de PAL SSF	36
Grafica 6: Comparación de las técnicas de 2-ME y Serotipificación	36
Grafica 7: Comparación de la Técnica de Serotipificación y PAL SSF	37

ABREVIATURAS

Ac	Anticuerpo
Ag	Antígeno
°C	Grados Centígrados
dil.	dilución
ELISA	(Enzyme-Linked immunosorbent assay) inmunoensayo enzimático.
hrs	horas
Ig	Inmunoglobulinas
lb	Libras
2-ME	2-Mercaptoetanol
PAL-SSF	Prueba de Aglutinación lenta con Solución Salina Fenolada
PAL 2-ME	Prueba de aglutinación lenta con 2-Mercaptoetanol
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
Salmochtest	Tests de <i>Salmonella choleraesuis</i>
Sch	<i>Salmonella choleraesuis</i>
SRRP	Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino
SSF	Solución Salina Fenolada
(+)	positivo
(-)	negativo
μl	microlitros

RESUMEN

De los animales domésticos el cerdo es uno de los reservorios más importantes de *Salmonella* y es susceptible de enfermarse con varios serotipos siendo el más importante *Salmonella choleraesuis*. La presencia de esta bacteria en los cerdos da lugar a dos problemas importantes; la presencia de salmonelosis en los cerdos tiene una repercusión en la comunidad como problema de salud pública, el otro aspecto está relacionado con la presencia de otros serotipos; la enfermedad es severa y con frecuencia mortal. Es un problema directamente relacionado con las condiciones de salud que privan la granja. El cerdo tiene la facilidad para infectarse de manera asintomática con otros serotipos. El diagnóstico Serológico llega a ser una herramienta importante para determinar si el cerdo ha estado expuesto a la *Salmonella* ya que existen pruebas como ELISA comerciales y PCR esta última no se utiliza para el Diagnóstico rutinario solo para investigación. La Serología llega a ser cada vez más indispensable por su especificidad y sensibilidad. En el presente trabajo es realizar una comparación de tres técnicas de diagnóstico serológico para *Sh* donde se utilizó la cepa de la bacteria vacunal, analizando 846 sueros de cerdos de diferentes granjas y diferentes status sanitarios; realizando dos pruebas cuantitativas como la aglutinación lenta con SSF PAL (detecta IgG e IgM) y aglutinación lenta con 2-meracptoetanol PAL 2-ME (detecta IgG), las cuales fueron adaptadas a microplacas con 96 pozos; y una prueba cualitativa que es la aglutinación en placa o serotipificación utilizando el antígeno (Salmochtest). Observando el grado de aglutinación característico para cada técnica siendo así positivos. La técnica que detectó más sueros positivos fue la PAL SSF con 506 en las diferentes diluciones, 111 positivos en la serotipificación y 94 en la PAL 2-ME. Analizando las tres técnicas se observa que las tres son buenas y confiables. Sin embargo, para tener un resultado más confiable y confirmatorio la técnica de 2-ME tiene un rango de error mayor en comparación con las otras dos técnicas. Con la PAL SSF y serotipificación se dan resultados confiables, confirmatorios, rápidos y de menor costo, con un título además, de detectar dos tipos de inmunoglobulinas para *Salmonelosis* en los cerdos.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 GENERALIDADES.

Descrita y aislada por primera vez hace más de 100 años por Smith y Daniel Elmer Salmons en 1885 en cerdos muertos de peste. (Journal, 1997) La *Salmonella* continua siendo una causa importante de enfermedad en cerdos y un problema de salud pública. (Merchant, 1980)

La Salmonelosis constituye un grupo de infecciones producidas por un microorganismo del genero *Salmonella*, adquiridas por ingestión de alimento o bebidas contaminadas y caracterizadas por presentar síndromes febriles asociados a manifestaciones gastrointestinales o sistémicas, con frecuencia severas. (Saravia, 2000)

Las *Salmonelas* son bacterias con una gran capacidad de adaptación a las condiciones ambientales y, por tanto, con una enorme difusión en el Ambiente en todas las zonas del mundo donde se crían cerdos en cantidad. (Merchant, 1980) Actualmente se conocen mas de 2200 serotipos. (Elmer, 1997)

El animal portador clinicamente normal es un problema grave en todas las especies huésped. La enfermedad se produce en todo en mundo y la incidencia está aumentando con la intensificación de la producción del ganado. (Otto, 1981)

El cerdo es uno de los reservorios más importantes y susceptible de enfermarse con 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 cerdo actual es un animal con un aparato digestivo llevado al límite de su capacidad y es, en consecuencia, mucho más propenso a sufrir alteraciones digestivas. El cerdo es un ser vivo cuyo aparato digestivo tiene una capacidad de adaptación a los componentes de la dieta limitada, que no se puede forzar sin correr el riesgo de alterar la fisiología y causar problemas de diarrea en los animales.

Todo ello hace que las enfermedades digestivas del cerdo estén teniendo una importancia creciente que se ve aumentada porque estas enfermedades casi siempre se hacen enzoóticas en las granjas y porque en muchos casos no disponemos de medidas de control suficientemente eficaces. (Darwich y cols, 1999)

Una vez infectados los cerdos se mantienen como portadores del agente y pueden excretarlo en forma intermitente, por el resto de sus vidas, por esta razón se hace muy difícil la eliminación de la enfermedad. Por lo tanto las técnicas y el control de limpieza y desinfección en las granjas deben mejorar. (Cano, 2001)

Las Enfermedades infecciosas que afectan al aparato digestivo del cerdo han sido clásicamente, y son aún, una de las principales preocupaciones de los veterinarios puesto que con las enfermedades respiratorias son las responsables de buena parte de las pérdidas económicas de las explotaciones porcinas. (Darwich y cols, 1999). Las pérdidas generadas por la enfermedad son la consecuencia de alta mortalidad, retraso en el crecimiento, incremento en los índices de conversión alimenticia y en los costos por medicaciones. (Cano, 2001)

La Salmonelosis en los cerdos es un problema directamente relacionado con las condiciones de salud que privan la granja. Sojka considera que en la Gran Bretaña es un problema poco importante, mientras que en México es común. (Sojka, 1979)

Todas las cepas de *Salmonella* son patógenas, tanto para los seres humanos como para los animales. La enfermedad se transmite por un mecanismo de contagio fecal-oral. (Santiago, 2002)

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

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

2.- Los aspectos de salud pública, relacionados con otros serotipos. La enfermedad en el cerdo es muy severa y con frecuencia mortal, la facilidad que tiene el cerdo con otro serotipos lo ha convertido, en uno de los principales focos de contaminación para los humanos y una Salmonelosis zoonótica. (Sojka, 1979)

El objetivo de Aislar *Salmonella* en varios proyectos; es para disminuir la infección de la mayor parte de las granjas y así se produzca carne de mejor calidad. En estos proyectos se trabaja con pruebas para el diagnóstico de *Salmonellas* como : ELISA, PCR, pruebas bacteriológicas. (Wahlström y cols, 1998)

El problema se agrava porque los cerdos pueden infectarse en los corrales del matadero y la maquinaria del rastro puede también contaminarse (Mc Donald y cols, 1978) y perjudicar posteriormente a los humanos, ya que la carne de cerdo y sus productos han sido implicadas en serias intoxicaciones alimentarias humanas. (Kolb y cols, 1998)

1.2 HISTORIA

Fue aislada por primera vez en cerdos muertos de peste, en 1885 por Smith y Salmon; creyeron que era la causa de la enfermedad y le dieron el nombre de *Bacillus choleraesuis*. Hasta 1904 se creyó que este microbio producía la peste porcina, Schweinitz y Dorset descubrieron que la verdadera causa de la enfermedad era un virus filtrable. Entonces se dieron cuenta que el bacilo que habían descubierto era un invasor secundario y era el causante de la enteritis infecciosa en el cerdo.

Este segundo invasor fue aislado por Gärtner en 1888, a partir de una persona joven muerta de gastroenteritis por haber comido carne cruda de una vaca enferma; el cual le denominó *Bacillus enteritidis*. El nombre genérico de *Salmonella* fue propuesto por Lignieres en 1900 en honor a D.E. Salmons. En los años siguientes se han descrito numerosas especies bacterianas que son características de este genero. (Merchant, 1980)

1.3 ETIOLOGÍA

Las *Salmonelas* son el grupo más complejo de la familia *Enterobacteriaceae*. (Elmer,1997) Cada una de ellas es capaz de producir trastornos del tracto gastrointestinal y septicemia (Hirsh, 1994). Este genero comprende una gran variedad de especies patógenas para el hombre y animales. (Bernard, 1983)

Son bacteria gram negativas, la pared esta formada por tres capas esenciales; membrana citoplasmática, capa (peptidoglicana, delgada) y la membrana externa (capa exterior). (Torres, 1995)

Son bacilos anaerobios facultativos, no hemolíticos, crecimiento en agar MacConkey a 37°C, son lactosa negativos, oxidasa negativos.

Tienen metabolismo fermentativo: La identificación a nivel de genero se basa en pruebas bioquímicas; la identificación de serovariantes se basa en criterios serológicos. (Charles, 1991)

No fermentan la lactosa ni la sacarosa, y en pocas excepciones produce H₂S. En general son móviles, descarboxilan la lisina y la ornitina. (Bernard, 1983)



Fig. 1: Fotografia donde se observa la forma de bacilo en la bacteria *Salmonella*, con la presencia de flagelos la cual la hace móvil.

Las *salmonelas* se agrupan (A;B;C...) tienen antígeno somático (O), que son lipopolisacáridos, y se subdividen en serotipos(1,2,...); y flagelares (H) que son proteínas en (A1,A2,B1,B2). *S. typhi* también tiene un antígeno capsular o antígeno virulento (Vi). (Elmer, 1997)

Los antígenos O y H son los principales antígenos utilizados para la tipificación de las *salmonelas*. Los antígenos O son similares a otras *enterobacterias*, pero los antígenos H de las *salmonelas* son difásicos. Es decir pueden existir en dos fases, fase uno o específica , y la fase dos o no específica. (Wolfgang y cols, 1993)

La presencia de lípidos en la capa externa de los bacilos gram negativos es la causa de que estas bacterias sean más resistentes a los agentes externos que las bacterias Gram positivas. (Carreón y Rodríguez, 2001)

Las serovariantes de *Salmonella* son parte de la flora intestinal de los animales:

- a) La presencia de *salmonellas* en el intestino de los animales domésticos puede relacionarse con un cambio transitorio en la flora intestinal sin enfermedad aparente o, en el otro extremo, con una gran enfermedad persistente con alta mortalidad.
- b) Se han encontrado en suelo y agua como contaminantes fecales.

A partir de cerdos clínicamente afectados y asintomáticos se han aislado alrededor de 50 serovariantes. La más frecuente es *Salmonella choleraesuis* como primer lugar e involucrada en problemas de salud pública y *Salmonella thyphimurium* como segundo afectando solo a cerdos. (Charles, 1991).

El genero *salmonella* es uno de los mas estudiados y comprende un gran número de especies, que en realidad son serotipos, pero cuya identificación tiene importancia en estudios epizootiológicos. (Barnes, 1979)

La Salmonelosis puede observarse bajo cinco diferentes síndromes clínicos, que se presentan en forma exclusiva o superpuesta y que corresponden a: portador (sin síntomas), infección intestinal (gastroenteritis), fiebre entérica (tifoidea), infección sanguínea (bacteremia) e infecciones focales (meningitis, osteomielitis o absesos). (Magarici, 2000). La que causa mayor impacto en las explotaciones porcinas es la septicemia. (Cano, 2001) Es mucho más común encontrar cerdos infectados con *salmonellas* que encontrar cerdos enfermos de salmonelosis. (Carvajal y cols, 2000)

En países Europeos existen programas de control de la salmonelosis en cerdos. El país que más ha avanzado en este sentido es Dinamarca, quizá porque la supervivencia de su producción porcina depende en buena medida de la exportación. Por esta razón el programa se ha llevado a varios países incluyendo Estados Unidos.

Los países importadores de carne y de productos cárnicos, con Japón a la cabeza, exigen carne libre de *salmonellas* y, para ello, es fundamental disponer de cerdos también libres de infecciones por esta bacteria. (Carvajal y cols, 2000)

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 los animales que se han hecho portadores inmunes. (Castillo, 2002)

Desde el punto de vista de la adaptación de la *salmonella* al huésped, se pueden distinguir tres tipos:

- A. Patógenos exclusivos del hombre, tales como *Salmonella typhi* y *paratyphi*, las cuales debido a su alta adaptación a los seres humanos, no son patógenas para los animales domésticos.
- B. Patógenos exclusivos de los animales, tales como *Salmonella aviarum* y *gallinarum*, propias de las aves y que no producen enfermedad en los seres humanos.

- C. Aquellas *salmonellas* que no muestran adaptación a una especie en particular, *salmonellas* zoonóticas, capaces de pasar de los animales domésticos al hombre y producir enfermedades, tales como *Salmonella typhimurium*, asociados a las ratas; *S choleraesuis* asociados a los cerdos y *Salmonella enteritidis* a las aves, específicamente a las gallinas. (Programas, 2000).

Un aspecto sin duda importante son las interacciones entre ciertos virus como el causante del Síndrome Respiratorio y Reproductivo del Cerdo (SRRP) o el virus de la enfermedad de Aujeszky con bacterias del género *Salmonella spp.* Las observaciones en varias granjas sugieren tal interacción, ya que en granjas positivas a uno o ambos virus el problema de salmonelosis se agrava. (Cano, 2001)

1.4 TRANSMISIÓN

Muchas infecciones por *salmonella* se adquieren por la ingestión de alimentos y agua contaminados con heces, siendo algunas infecciones el resultado de un recrudescimiento del estado de portador. (Taylor, 1979)

El cerdo es el huésped primario de *S choleraesuis*, aunque este microorganismo se encuentre también en otros animales y en el hombre. (Bernard, 1983)

El reservorio de los microorganismos del género *salmonella* es el tracto gastrointestinal. (Hirsh, 1994) Los microorganismos pueden sobrevivir durante meses en áreas húmedas y calientes (en los establos de engorde de los cerdos y en bebederos cavados en la tierra). Los pájaros y los roedores también son fuente de infección. (Otto, 1981)

Las fuentes más comunes de infección incluyen el suelo contaminado, la vegetación, el agua, los ingredientes de los piensos de los animales (como por ejemplo la harina de huesos, la harina de carne y la harina de pescado) sobre todo aquellos que contienen constituyentes de leche, derivados de huevo y carne, instalaciones mal desinfectadas, contacto con las heces de animales portadores. (Diaz, 1987) Los alimentos contaminados pueden lucir y oler normalmente. (Gerhardt y cols, 1981)

La puerta habitual de infección es oral (Otto, 1981). 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 eliminan por la orina. Al mismo tiempo, los que permanecen en el intestino siguen multiplicándose y eliminándose por las heces. (Bernard, 1983)

En el caso de la *salmonellas*, las células epiteliales intestinales no constituyen su hábitat para el crecimiento y la multiplicación sino una barrera que debe ser atravesada y, durante el pasaje inicial, las células intestinales aparentemente no son lesionadas. (Moselio, 1994)

En las vías biliares existe en general un crecimiento abundante, originándose un flujo continuo de organismos hacia el intestino delgado donde tienden a localizarse las placas de peyer. Su capacidad de persistir en las vías biliares pueden determinar la aparición del estado del portador, en el que se continúan eliminando bacilos por las heces. (Bernard, 1983)

La infección se produce como consecuencia de la ingestión de *salmonellas* viables. La enfermedad puede aparecer inmediatamente después de que ha tenido lugar la infección; en un animal ya infectado, es posible que la enfermedad sea consecuencia de una modificación del medio intestinal. (Hirsh, 1994)

1.4.1 INGESTIÓN

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

1.4.2 CERDOS PORTADORES

Los animales enfermos, sobre todo si presentan un cuadro gastrointestinal, son capaces de contaminar rápidamente los pisos, paredes, comederos, bebederos etc. (Sojka, 1979)

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 intermitentemente 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)

Sin embargo, es importante señalar que aún en condiciones de infección masiva del alimento o de las instalaciones, sólo un pequeño número de animales desarrollan la enfermedad clínica, evidenciando la importancia de otros factores tales como el estado nutricional, capacidad inmunológica, etc. (Sojka, 1979)

El resultado de la interacción entre el hospedador y los microorganismos del genero *salmonella* depende del grado de resistencia a la colonización del hospedador, de la dosis infectate y de la especie en concreta de *salmonella*. (Hirsh, 1994)

La prevalencia de la infección varia entre las especies y los países, y es mucho más alta que la incidencia de la enfermedad clínica, que comúnmente es precipitada por situaciones de stress, tales como la suspensión súbita de alimento, transporte, sequía, aglomeración, parto reciente y la administración de algunos medicamentos. (Otto, 1981)

Los brotes clínicos están relacionados con estados de inmunodepresión, como sucede en los animales recién nacidos y en los animales que se hallan sometidos a estados de estrés, y de los cerdos con enfermedades víricas sistémicas. Estas circunstancias convierten a los animales en sensibles a la exposición exógena o a la activación de infecciones silenciosas. (Hirsh, 1994)

Estudios indican que la infección depende del número de bacteria que sea excretada. (Fedorka y cols, 1994) Estudios epidemiológicos indican que aumenta la infección por el contacto con heces contaminadas. (Linton y cols, 1970)

Una invasión del bacilo puede presentarse a continuación y tener por resultado septicemia, con localización subsiguiente en el cerebro y las meninges, el útero preñado, los aspectos distales de las extremidades y las puntas de las orejas y la cola, lo cual puede tener por consecuencia, respectivamente, meningoencefalitis, aborto, osteítis y gangrena seca de los pies, la cola y las orejas. (Otto, 1981)

La vía de entrada de *Salmonelas* en humanos es la digestiva. El bacilo debe sobrepasar la barrera defensiva por acidez gástrica. El agente que consigue sobrevivir de 24-72 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 hábitat 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)

1.5 SIGNOS Y SÍNTOMAS

Un elemento que se considera importante para la predisposición viene dado a que en las granjas, los lechones entre 5 y 8 semanas de edad, en los que ya ha disminuido la inmunidad calostrala, comienzan a infectarse con el virus del SRRP, presentando un periodo de viremia con fiebre y disminución en el consumo de alimento, por lo tanto las dosis de antibióticos ingeridas, disminuye significativamente por lo que se incrementan las condiciones para que la infección por *Salmonella spp* ocurra. (Cano, 2001)

Edad de susceptibilidad, pueden ser afectados todos los cerdos de todas las edades pero la enfermedad clínica es más frecuente en cerdos de 8 a 16 semanas 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 la septicemia aguda producida principalmente por *salmonella choleraesuis*. (Charles, 1991)

En el cerdo, la salmonelosis se puede presentar bajo tres aspectos clínicos (Taylor, 1979):

- 1.5.1 Septicemia: Es la forma con menos signos y lesiones, pero con mayor mortalidad. Se presenta usualmente en lechones recién nacidos, y pueden producirse brotes en cerdos hasta de 6 meses de edad. (Otto, 1981) Lo más usual es que los animales mueran súbitamente en 24 a 48 horas sin signos, aunque algunos pueden presentar debilidad y temperaturas elevadas (40.5 a 41.5°C). Es frecuente encontrar zonas de decoloración o petequias desde el rojo oscuro hasta morado en las orejas y en la parte ventral del abdomen, pueden llegar a producirse signos nerviosos (depresión) e inapetencia. (Díaz, 1987)

El periodo de incubación es de dos días a varias semanas, y la muerte sobreviene de 1-4 días después de la iniciación de los signos. La mortalidad es muy elevada puede alcanzar hasta el 100%, pero la mortalidad dentro de la granja puede ser reducida. (Pijoan y Ramírez, 1982)

La forma de septicemia aguda de salmonelosis se caracteriza por fiebre elevada, depresión, postración y muerte aguda. (Taylor, 1979) Los síntomas no específicos son manchas rojizas o moradas en la piel, neumonía y síntomas neurológicos debido a meningitis y/o encefalitis. Normalmente es fatal y la muerte es rápida sin síntomas premonitorios. (Charles, 1991)

- 1.5.2 Forma Entérica Aguda: En esta fase de la enfermedad es más fácil detectar signos. Usualmente los animales tienen diarrea grave y con frecuencia tenesmo, la cual es muy acuosa y maloliente. Además se pueden observar signos respiratorios y nerviosos, así como una fiebre elevada (40.5-41.5 °C). (Pijoan y Ramírez, 1982)

Las heces varían considerablemente: pueden tener un olor pútrico y contener moco, moides fibrinosos e incluso fragmentos de membrana mucosa; en algunos casos se eliminan grandes coágulos de sangre; y en la exploración rectal hay malestar, tenesmo y corrientemente disentería. (Otto, 1981)

Es importante distinguir este cuadro del de Disentería, lo que se facilita por la presencia de fiebre y la hemorragia en nódulos. Los cuadros neumónicos se deben usualmente a *S. typhisuis* los cuales se pueden confundir con *P. multocida*. (Pijoan y Ramírez, 1982)

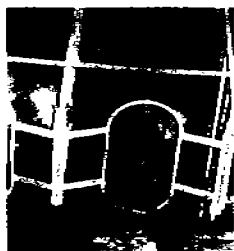


Fig 2: En el cerdo se observa las lesiones y la diarrea que presenta por *S. choleraesuis*.

La forma entérica de la salmonelosis se caracteriza por fiebre, anorexia, diarrea mucohemorrágica, emaciación progresiva y eventualmente muerte. Las heces diarreicas contienen con frecuencia cantidades variables de sangre, fibrina y mucosa necrótica desprendida. (Taylor, 1979) Muchos sobrevivientes de la forma entérica pueden estar débiles y permanecer como portadores. (Charles, 1991)

1.5.3 Presentación Entérica Crónica: Es una forma común en los cerdos y el ganado vacuno adulto. (Otto, 1981) Taylor menciona la existencia de animales con emaciación grave, con fiebre intermitente y diarrea persistente con fibras grisáceas, con moco pero sin sangre y una mala respuesta al tratamiento. (Sojka, 1979) En los cerdos en crecimiento, la constricción rectal puede ser una secuela si la parte terminal del recto ha quedado afectada. Los cerdos afectados están anoréxicos, pierden peso y su abdomen queda ampliamente distendido. La lesión es evidente por palpación digital y en la necropsia. (Otto, 1981)

1.6 PATOGENIA

Las células blanco revisten el último tramo del intestino delgado y el primer tramo del intestino grueso. Si la célula blanco está "desocupada" con respecto al número de *salmonellas*, es posible que se produzca la enfermedad. Al adherirse el bacilo con la célula blanco, las cepas que producen diarrea se multiplican y segregan una toxina e invaden a la célula. En el interior de la célula, las *salmonellas* segregan la citotoxina que provoca la muerte de la célula y su desprendimiento de la mucosa intestinal. La gravedad de la enfermedad depende del número de células blanco afectadas. La multiplicación del microorganismo origina la endotoxemia, la cual explica la mayoría de los síntomas y el curso de la enfermedad. (Hirsh, 1994)

Las bacterias que invaden la mucosa gastrointestinal provoca la liberación de líquidos, se multiplican en la mucosa e inducen una reacción inflamatoria aguda. (Pijoan y Ramírez, 1982)

Tiene que producirse la colonización de la mucosa intestinal, que puede implicar factores de adherencia, quimiotaxis y movilidad. (Charles, 1991)

La capacidad de las *salmonellas* para adherirse a las células intestinales del huésped y sobrevivir intracelularmente puede deberse a los antígenos O de superficie. (Wolfgangk y cols, 1993)

Las *salmonellas* se adhieren a las microvellosidades de las células intestinales y penetran en la mucosa del intestino delgado y del grueso. Las bacterias se encuentran normalmente en vacuolas rodeadas de membrana dentro de las células epiteliales y eventualmente migran a la base de las células. La proliferación bacteriana dentro de las células epiteliales es muy limitada. Las bacterias también son capaces de pasar entre células epiteliales adyacentes en su migración hacia la lamina propia y placas de peyer de íleon, ciego y colon; donde las bacterias son fagocitadas por neutrófilos o por macrófagos. (Charles, 1991)

Los neutrófilos son el tipo de célula predominante; estos focos iniciales de infección en la lamina propia; migrando muchos fagocitos hacia la luz intestinal. (Sojka, 1979)

La destrucción e invasión 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 en íleon, ciego y colon, ya que presentan elevadas concentraciones de tejido linfoides. (Taylor, 1979) La destrucción epitelial se observa en estudios tardíos de la enfermedad. (Wolfgangk y cols, 1993)

El bacilo alcanza los ganglios vía conductos linfáticos. La proliferación bacteriana provoca linfadenopatías con hemorragias.

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 bacteriemia transitoria. En algunas infecciones permanece 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 bacteriemia, los organismos son eliminados por las células reticulo-endoteliales fijas, especialmente en hígado, bazo y médula ósea. En esos tejidos la bacteria se multiplica, durante el curso del proceso una segunda fase de bacteriemia que puede provocar una septicemia fatal o una localización secundaria en varios órganos y tejidos.

La bacteria alcanza la entrada en el intestino a través del hígado y de los conductos biliares, el resultado es una enterocolitis con diarrea. (Pijoan y Ramírez, 1982)

En el cerdo, la salmonelosis se puede presentar como una septicemia aguda y fulminante, o como una enfermedad intestinal debilitante de curso crónico. Su forma clínica depende de la especie de *salmonella*, de la dosis infectante, y de la resistencia a la colonización del animal infectado. La enfermedad se observa con mayor frecuencia en animales que se han sometido a estado de estrés. La enfermedad ataca a los animales jóvenes (habitualmente a los de menos de 6 semanas de edad) y también a los adultos. Los serotipos predominantes son *S choleraesuis* y *S typhimurium*. (Hirsh, 1994)

1.7 FACTORES DE VIRULENCIA

Se considera que los lipopolisacáridos juegan un papel principal en la patogenia y en las manifestaciones clínicas de salmonelosis

1. Los antígenos de superficie O juegan un papel importante en la especificidad del hospedador y en la invasión intestinal ya que pueden permitir a la bacteria sobrevivir intracelularmente. La pérdida de las cadenas específicas laterales disminuye la virulencia, mientras que la variación en los antígenos O de una serovariante puede cambiar significativamente su virulencia.
2. La potencia de las endotoxina es responsable de muchas de las manifestaciones clínicas como el daño a la mucosa intestinal, hemorragias y perforaciones intestinales.
3. La endotoxemia y el shock endotóxico son manifestaciones comunes en animales con septicemia.

Se ha comprobado que dos toxinas proteicas, enterotoxina y citotoxina, contribuyen a la patología intestinal.

- a. Las enterotoxinas termolábiles y termorresistentes son similares a las enterotoxinas de *E. coli* y a la de *V. cholerae*.
- b. Las enterocolitis producidas por *salmonellas* pueden provocar un aumento de la síntesis y secreción de prostaglandinas, y estimulan la actividad de adenil ciclasa de la mucosa. La adenil ciclasa actúa enzimáticamente sobre el ATP convirtiéndolo y elevando la concentración de cAMP cíclico en la mucosa, que produce en los enterocitos líquido anormal y transporte de cloruro y sodio; provocando la hipersecreción de fluidos y electrolitos desde el epitelio intestinal.
- c. La citotoxina es similar a la citotoxina de las *Shigellas*. Inhibe la síntesis proteica en las células epiteliales de la mucosa intestinal.

La enterotoxina y la citotoxina se producen en concentraciones relativamente bajas, por lo que la invasión de las células epiteliales por las *Salmonellas* podría provocar un mecanismo efectivo para liberar la toxina. Una vez que las toxinas se encuentran en el interior de las células epiteliales intestinales, incluso cantidades mínimas de estas toxinas pueden ejercer un efecto marcado en el transporte de fluidos y electrolitos, así como en la viabilidad celular. (Charles, 1991)

1.8 LESIONES

El periodo de incubación es de dos días a varias semanas y la muerte sobreviene 1-4 días después de la iniciación de los signos. (Sojka, 1979) Los cerdos afectados están anoréxicos, pierden peso y su abdomen queda ampliamente distendido. (Otto, 1981)

La enfermedad se presenta en cerdos menores de cuatro meses y ocasionalmente en cerdos en finalización o en pie de cría en donde se puede encontrar algún animal con muerte súbita. Las lesiones pueden ser evidentes por palpación digital y en la necropsia. (Díaz, 1987)

En las lesiones activas pueden observarse los bacilos localizados intracelularmente en los fagocitos mononucleares. Aquí parecen estar protegidos por la acción bacteriolítica de los anticuerpos específicos, que aparecen en la sangre mucho antes de que la enfermedad haya curado.

Algunos estudios sugieren que la muerte intracelular está relacionada con la aparición de la hipersensibilidad retardada. (Bernard, 1983)

1.8.1 LESIONES ENTERICAS.

Las lesiones intestinales se encuentran principalmente en ileon, ciego y colon. El duodeno y el yeyuno sólo están ocasionalmente afectados. (Charles, 1991)

A la necropsia se observa inflamación del tracto digestivo, y el contenido es acuoso con material necrótico presente. La mucosa intestinal usualmente está engrosada y hemorrágica. (Pijoan y Ramírez, 1982)

La hiperplasia linfoide afecta a los ganglios linfáticos, placas de peyer y bazo. Las hemorragias intestinales o las perforaciones del intestino son, en general, consecuencia de ulceraciones necróticas de las placas de peyer. (Bernard, 1983)

Las lesiones diftericas son probablemente el resultado de una salmonelosis intestinal primaria con lesiones ulcerativas secundariamente contaminadas.

1.8.2. LESIONES VICERALES.

Las lesiones más sugestivas en estos casos son linfadenopatías (linfadenitis serohemorrágica), hepatomegalia, esplenomegalia e ictericia. (Charles, 1991)

Los nódulos linfáticos mesentéricos pueden estar aumentados de volumen y hemorrágicos, el pulmón consolidado y neumónico, el hígado descolorido y los riñones con petequias. (Pijoan y Ramírez, 1982)

Otras lesiones notables son necrosis focal del hígado; inflamación de la vesícula biliar y lesiones inflamatorias focales en el pulmón, medula ósea y periostio. (Bernard, 1983)

1.8.3. LESIONES SEPTICEMICAS.

Meningitis, encefalitis y neumonía son complicaciones corrientes de las septicemias. (Charles, 1991)

La infección que afecta al tracto gastrointestinal (hígado, vesícula biliar), las superficies endoteliales (placas ateroscleróticas, aneurismas ileofemorales o aórticos, válvulas cardíacas), el pericardio, las meninges, los pulmones, las articulaciones, los huesos, el tracto genitourinario o los tejidos blandos. Los tumores sólidos preexistentes pueden infectarse a veces y desarrollar abscesos que se convierten a su vez en fuentes de bacteriemia por *salmonella*. (Pijoan y Ramírez, 1982)

Se encuentra en la necropsia cianosis de orejas, cola, abdomen, hemorragias en la mucosa gástrica, intestinos, corteza renal y epicardio; ganglios mesentéricos y bazo aumentados de tamaño e hiperémicos. En casos crónicos se observa erosión de la mucosa intestinal, áreas de ulceración en intestino delgado y grueso. (Díaz, 1987) En el hígado se pueden encontrar pequeños focos blancos de necrosis.

1.9 DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

La salmonelosis generalmente es diagnosticada por el laboratorio de microbiología a través del uso de medios selectivos de aislamiento y una combinación de parámetros bioquímicos, serológicos y físicos para la identificación específica. (Moselio, 1994)

La Historia de la granja y la clínica que observemos nos orientan hacia un diagnóstico presuntivo que se debe confirmar con:

1. Hallazgos macroscópicos de la necropsia (principalmente enteritis necrótica, colitis y linfadenopatía mesentérica).
2. Aislamiento de la bacteria (aunque las muestras deben tomarse de órgano menos contaminados como los ganglios linfáticos mesentéricos).
3. Histopatología, a nivel de intestino, se puede evidenciar necrosis de las criptas y de la superficie de los enterocitos que involucra la mucosa y submucosa (úlceras en colon) así como los ganglios linfáticos, aunque en los casos crónicos se pueden observar hipertróficos. (Cano, 2001)

Se toman en cuenta tres características importantes en el laboratorio para poder diagnosticar Salmonelosis:

Síntomas clínicos: Estos suelen ser característicos, pero es necesario diferenciarlos de varias enfermedades similares. Como son la colibacilosis entérica de los cerdos recién nacidos y de los cerdos en destete, enteritis hemorrágica debida a *Campylobacter sputorum* var *mucosalis* y las septicemias comunes en los cerdos en crecimiento, que incluyen la erisipela, el cólera del cerdo, pasteurelisis y hemofilosis.

Lesiones: Son las de una septicemia o una enteritis fibrinosa necrozante. Generalmente son necesarias técnicas de cultivo especial para recuperar los microorganismos. (Otto, 1981)

Cultivo: Aislamiento e identificación bioquímica del género *Salmonella* e identificación serológica de las serovariantes que facilitan reconocer anticuerpos específicos presentes en el suero de los animales. (Charles, 1991)

El Diagnóstico depende de los signos clínicos y la exploración de laboratorio de las heces, los tejidos obtenidos de los animales afectados, del alimento, del aporte del agua, y de las heces de roedores y pájaros silvestres que pueden habitar en los recintos. (Otto, 1981)

1.10 DIAGNOSTICO BACTERIOLÓGICO

El diagnóstico de una infección por *Salmonella* se aísla a partir de la sangre, heces, orina, aspirado de médula ósea, bilis u otros órganos. (Bernard, 1983) Estas pruebas tardan dos a tres días en aportar los resultados.

En la infección producida por *S.choleraesuis* se recomiendan muestras de intestino, ganglios linfáticos mesentéricos; también pueden ser útiles los hisopos rectales. (Merchant, 1980; Diaz, 1987)

Hemocultivo: Es el procedimiento de elección, se realiza en botellas con caldo, algunos con caldo y agar (medios bifásicos) y posteriormente a medios selectivos a base de bilis y diferenciales. Coincidiendo con la fisiopatología de la infección, son positivos especialmente durante la primera semana de la infección; se calcula que al final de la tercera semana la positividad solamente alcanza el 50%. (Saravia, 2000)

Los hemocultivos presentan las mejores muestras para la detección de septicemia y fiebre entérica en las primeras dos semanas de la enfermedad. Pueden constatarse no más del 90% de hemocultivos positivos de los pacientes durante este lapso, incluso cuando se toman tres muestras consecutivas y disminuye al 25% o menos hacia la cuarta semana. (Wolfgang y cols, 1993)

Urocultivo: Su valor diagnóstico es muy limitado pues la bacteriuria no es continua. Su máxima positividad está en la tercera semana. La *Salmonella* también puede ser aislada de otros productos como las manchas rosadas o reoseolas típicas, de la secreción bronquial, el líquido articular etc.

Su aislamiento a partir de la sangre o de la orina indica que se ha producido una invasión hística, permitiendo así establecer el diagnóstico. (Bernard, 1983)

Mielocultivo: El cultivo del aspirado de médula ósea se considera como el mejor método para el aislamiento de *salmonella* en los pacientes con fiebre tifoidea y paratifoidea. Aunque el procedimiento produce una molestia transitoria, en general es bien tolerado y los cultivos son más rápidamente positivos. Se recomienda sea practicado por personal con experiencia. Pueden ser positivos aún cuando los hemocultivos sean negativos.

El cultivo de aspirado de médula ósea es más sensible, pero el procedimiento de extracción del aspirado es delicado y puede ser doloroso.

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.

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 particularmente útil para el control postratamiento de los pacientes y para detectar los portadores crónicos. (Borrego y cols, 1992)

Durante los estadios agudos de gastroenteritis, el número de *salmonellas* en las heces es grande, y la materia fecal es la muestra de elección. (Wolfgang y cols, 1993) Dada la eliminación intermitente de los microorganismos por los animales infectados, generalmente es necesario hacer exámenes fecales repetidos antes de recuperar el microorganismo o de que pueda identificarse al animal como negativo. (Otto, 1981)

Pueden encontrarse *salmonellas* en otras muestras apropiadas, como esputo en caso de abscesos pulmonares. (Wolfgang y cols, 1993)

Las muestras recién obtenidas se siembran en medios selectivos, entre los cuales se incluyen el agar de MacConkey, el agar XLD, y el agar verde brillante. Como medios de enriquecimiento para *salmonellas* se recomiendan el caldo tetracionato y caldo para bacterias gram-negativas. Las *salmonellas* crecen formando colonias que no fermentan la lactosa en los medios que contienen azúcar. Como la mayoría de los serotipos de *salmonella* producen H₂S, las colonias que crecen en los medios que contienen hierro tendrán el centro negro. Las colonias sospechosas de ser *salmonella* se pueden sembrar en medios diferenciales y a continuación ensayarlas con antisueros. Para cultivar las *salmonellas* a partir de tejidos, se puede utilizar el agar-sangre. (Hirsh, 1994)

El aislamiento bacteriológico a partir de pulmón, hígado, bazo o ganglios linfáticos mesentéricos, integrado a la información aportada por la evaluación clínica y epidemiológica así como los hallazgos macro y microscópicos, nos permiten obtener el diagnóstico definitivo. (Cano, 2001)

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

1.11 DIAGNOSTICO SEROLOGICO

La identificación definitiva supone la determinación de los antígenos flagelares y somáticos y posiblemente su tipificación con bacteriofagos. (Hirsh, 1994)

Reacción de seroaglutinación (Widal): es de poco valor como prueba diagnóstica. En la infección no tratada sólo 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 tienen valor diagnóstico aunque puedan observarse títulos elevados en ellas.

El serodiagnóstico de la infección por *S typhi*, usando el ensayo de aglutinación de Widal (reacciones febriles), se basa en la detección de anticuerpos en el suero de los pacientes a los antígenos O (LPS), H (flagelar) y el Vi (antígeno capsular). La limitante de este método es que pobladores sanos de áreas endémicas (en donde la enfermedad es prevalente), presentan títulos (concentraciones) altos de anticuerpos, dificultándose en ocasiones la distinción entre pacientes afectados y sanos. (Calva, 2002) Las pruebas serológicas para el estudio de las aglutininas específicas (prueba Widal) deben realizarse, como mínimo dos muestras: la primera, obtenida tan pronto como sea posible durante la enfermedad, y la segunda, 7-10 días después. Las distintas diluciones deben ponerse a prueba frente al organismo infectivo, así como frente a los antígenos O y H estándar de *salmonella*. (Wingstrand y cols, 1998)

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 poseen Ac frente a diversos grupos séricos de *salmonella*, como resultado de infecciones inaparentes o de inmunizaciones previas; por otra parte, distintos tipos de *salmonella* posee Ag idénticos. De ahí que las pruebas Widal utilizando Ag de grupo, tal como se lleva a cabo en la mayoría de los laboratorios clínicos, resulten totalmente inútiles, y, en algunos casos, den resultados que conducen a errores diagnósticos. (Bernard, 1983)

En muchos casos de fiebre tifoidea no hay elevación de títulos de aglutininas durante el curso de la infección y en ocasiones se pueden observar elevaciones no específicas, debido a reacciones cruzadas. Las pruebas de análisis de aglutinación son simples en los cuales los microorganismos muertos se mezclan con los sueros de los pacientes. Si hay anticuerpos, se entrecruzan con los microorganismos, lo que da como resultado la formación de acumulaciones de bacterias visibles a simple vista. La mayor dilución del suero que produce aglutinación es el título de anticuerpos. (Mosehio, 1994)

Diagnóstico inmunoenzimático: la detección de anticuerpos IgM e IgG contra el lipopolisacárido por técnica de ELISA aún no está disponible para uso rutinario. (Bernard, 1983) Una ventaja en la técnica de ELISA es que detecta la persistencia de los anticuerpos IgG circulantes, aunque el principal inconveniente es que las concentraciones séricas de IgG pueden ser bajas al principio de la infección y por ende indetectables, mientras que la excreción fecal es elevada. Otra ventaja de la prueba de ELISA consiste en su facilidad de aplicación para la detección en gran escala de cerdos infectados. (Velillá y cols, 2004)

Otros inmunoensayos en el formato de ELISA, también se han utilizado para la detección de antígenos o anticuerpos específicos en suero. Asimismo, métodos moleculares como la hibridación con RNA ribosomal, con el gen del antígeno Vi han sido usados. La limitante principal con estos métodos es que requieren de una infraestructura sofisticada de laboratorio y el personal altamente especializado, además de que pueden tomar de varias horas o varios días.(Calva, 2002)

Los cerdos infectados pueden ser detectados en las granjas con un método serológico rápido utilizando sangre total y un antígeno coloreado en una prueba rápida de aglutinación en placa, aunque las infecciones identificadas mediante este método deben ser confirmadas mediante una técnica bacteriológica clásica.

Con fines de investigación se han utilizado otras pruebas dentro de las cuales están la reacción en cadena de la polimerasa (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 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 agua contaminadas, y en brotes de salmonelosis en los cuales se requiere una fuente común de infección. (Velillá y cols, 2004)

La técnica basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha revolucionado el diagnóstico molecular de las enfermedades infecciosas. A medida de los métodos tradicionales, que requieren 6 o 7 días para dar un resultado definitivo, por el método de PCR esto mismo se logra en sólo 1 a 3 días, dependiendo de diversas modificaciones en el protocolo de trabajo.

La técnica de PCR, es un método rápido que posee ventajas inherentes que la caracterizan y por ende es un excelente método aplicable a la detección e identificación de *Salmonella* y de otros patógenos. Además, las cepas carentes de antígenos somáticos (O) y /o flagelares (H) (cepas rugosas), que solo son reconocidas como *Salmonella spp.* por el método tradicional de serotipificación pueden ser identificadas mediante PCR, debido a que esta técnica detecta secuencias específicas de DNA y no es alterada por variaciones fenotípicas, que se pueden evidenciar por patrones bioquímicos. (Velillá y cols, 2004)

En la técnica de PCR para *Salmonella*, se incluye el primer específico de virulencia que identifica cepas de *Salmonella* potencialmente patógenas por ser portadoras del plásmido spv, un segundo *primer* que detecta específicamente a *S enteritidis* y un tercer *primer* que detecta específicamente y en general a cepas de *Salmonella spp.*

Es así que métodos de detección más rápidos, precisos y sencillos, son en extremo necesarios para ésta y otras bacteriemias. Ciertamente, la mejor caracterización de antígenos para pruebas inmunológicas, o de genes de virulencia (que determinan la severidad y las características de la enfermedad) para pruebas por amplificación específica de material genético, como la PCR, serán claves para avanzar en este rubro de impacto de salud pública. (Wingstrand y cols, 1998)

1.12 TRATAMIENTO

El cuidado en el destete y durante la lactancia es el principal tratamiento de la forma entérica y sistémica de la salmonelosis y el tratamiento antimicrobiano apropiado, determinado mediante pruebas de sensibilidad. (Hirsh, 1994)

Los animales afectados se manipulan en forma individual por vía intramuscular con el agente antibacteriano adecuado. (Díaz, 1987) Con antibióticos se puede lograr un tratamiento eficaz, pero persiste un problema de resistencia, que posiblemente a la conjugación entre *Salmonella* con cepas de *E coli* que ya existen en el intestino. (Morilla, 1994)

La ampicilina puede también ser útil para el tratamiento de la salmonelosis septicémica en todas las especies. Este debe continuar diariamente hasta 6 días. Cuando son prolongados con elevadas dosis de ampicilina resultan efectivos en un 60-80% de los casos, y eliminan los microorganismos situados en las vías biliares. (Bernard, 1983)

Se recomienda la combinación de trimetropima-sulfametoxazol y ampicilina o cloranfenicol se ha demostrado ser efectiva en el tratamiento clínicamente de estas infecciones (Wolfgang y cols, 1993), pero la resistencia es más común. (Moselio, 1994) Taylor también señala el problema de que los animales quedan como portadores sanos.

La furazolidiona da resultados pocos claros (Thomas, 1977), y probablemente no debe utilizarse.

La medicación oral debe administrarse en el agua o en el alimento a todo el grupo de animales enfermos (Wilcok y cols, 1992), ya que los animales afectados están sedientos debido a la deshidratación y su apetito es generalmente malo.

La terapéutica de líquidos para corregir el desequilibrio ácido-base y la deshidratación es necesaria. (Otto, 1981). El tratamiento de sostén debe centrarse en la prevención de la deshidratación y desequilibrio electrolítico. (Wolfgang y cols, 1993)

En la actualidad se disponen de varios antimicrobianos útiles para la profilaxis de las infecciones por *salmonella*, dentro de las cuales están el cloranfenicol, la ampicilina, la amoxicilina, neomicina, tetraciclina, el sulfametoxazol-trimetropim, las cefalosporinas de tercera generación, como cefotaxina, la cefoperazona. (Jawetz, 1996) Las fluoroquinolonas erradican a los microorganismos y reducen la duración de la enfermedad. (Moselio, 1994), como la ciprofloxacina y la ofloxacina.

La salmonelosis septicémica en los cerdos generalmente responde favorablemente si se detecta a tiempo. La forma entérica es difícil de tratar eficazmente en todas las especies. Aun cuando pueda conseguirse la curación clínica, es difícil la cura bacteriológica, particularmente en los animales adultos, porque los microorganismos se establecen en el sistema biliar y son eliminados intermitentemente a la luz intestinal, lo cual causa enteritis recurrente crónica y contaminación del medio ambiente. (Otto, 1981)

1.13 INMUNIZACIÓN

La inmunización contra los patógenos que requieren de interacciones con otros microbios y/o de la contribución de factores de estrés (neumonía enzótica y mastitis por ejemplo), es todavía más difícil. Es por ello que los investigadores de las nuevas vacunas siempre deben de estar advertidos de la manera, como el aparato inmunocompetente del cerdo interactúa con las partes del microorganismo patógeno, conocidas como antígenos, que estimulan la respuesta inmune.

La inmunidad adquirida es la protección que el cerdo genera durante su vida. Se puede adquirir ya sea pasiva o activamente. Un cerdo recién nacido depende particularmente de la inmunidad pasiva, pues nace sin inmunidad y debe adquirirla mamando el calostro lo más pronto posible después de nacido.

La inmunidad pasiva también puede ser inyectada o administrada oralmente en la forma de suero hiperimmune (obtenida de un cerdo que se ha recuperado de la enfermedad, o que ha sido inmunizado más de una vez y, por ello, tiene una alta concentración de anticuerpos en su organismo). La inmunidad pasiva no hace que el aparato inmunocompetente cree células capaces de recordar al antígeno, de tal manera que el animal no se a protegido contra una exposición posterior.

La inmunidad activa se crea cuando el cerdo se recupera de la infección natural o se expone artificialmente al agente infeccioso mediante una vacunación.

Las vacunas tienen dos objetivos:

1. No causar la enfermedad (seguridad)
2. Proteger con efectividad al cerdo contra la enfermedad causada por el agente infeccioso, estimulando al sistema inmune del cerdo (eficacia).

La manera como el sistema inmunológico del animal responde a la inmunización depende del procedimiento seguido; es necesario considerar dos aspectos la vía de administración y la naturaleza del antígeno. (Thomas, 2002)

Los microorganismos que invaden al cerdo a través de las superficies mucosas por lo general requieren de una vacuna administrada a través de mucosas (vía oral). Otro enfoque para vacunar a los cerdos es por vía intraperitoneal, que consiste en la inyección de la vacuna directamente en la cavidad abdominal, esta inmunización permite inyectar el antígeno vacunal cerca del sitio de la infección.

Las enfermedades bacterianas entéricas tales como las infecciones producidas por *E coli* y *Salmonella*, también son prospectos para la administración oral de las vacunas.

En los lechones recién nacidos, los anticuerpos maternos circulantes, evitan que el animal desarrolle su propia inmunidad activa. Esta es la principal razón por la que los programas de vacunación a menudo no son efectivos en los cerdos recién nacidos. Además no todos los lechones responden a una vacunación de la misma forma.

Los anticuerpos maternos presentes en los lechones de 8 semanas no interfieren en las pruebas de ELISA. (Heijden y cols, 1998)

A medida que los cerdos se van exponiendo a los antígenos que encuentran en el ambiente que los rodea, su sistema inmune madura y comienza a producir células inmunes que los ayuda a atacar las enfermedades.

La edad adecuada para inmunizar a un cerdo joven es después de que haya desaparecido la inmunidad pasiva obtenida por su madre y cuando su propio sistema inmunológico haya madurado lo suficiente como para responder al antígeno vacunal, creando suficiente protección para mantener al animal sano bajo circunstancias normales.

La mayoría de los programas de inmunización requieren una primera exposición para estimular la inmunidad (respuesta primaria) y una segunda exposición para generar una sólida respuesta, que sea suficiente para proteger al cerdo contra la enfermedad. Esta protección tiene una cierta duración. Para dar tiempo a que las células inmunes respondan a un antígeno, es necesario esperar cuando menos dos semanas y preferentemente 3; antes de administrar la segunda inmunización. (Thomas, 2002)

Los refuerzos deben ser administrados cada 5 y 3 años para la forma oral y parenteral respectivamente. (Darwich y cols, 1999)

Si no hay una inmunidad mediada por células efectivas, estos microorganismos sobrevivientes pueden multiplicarse hasta el punto en que nuevamente se produce la bacteriemia y los síntomas. (Moselio, 1994)

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 de los lechones lactantes.

- 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 las vacunas 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. (Pijoan y Ramírez, 1982) Hay otra que es la Enterisol SC-54 que se utiliza contra *Salmonella choleraesuis*. (Castillo, 2002)

La capacidad reproductora de *Salmonella* no se encuentra limitada a animales no vacunados, puesto que la infección se puede presentar incluso en animales previamente vacunados. (W.Scöil y cols, 1984)

Las vacunas pueden dividirse en tres categorías, en base a su efectividad y disponibilidad:

1. Las vacunas prácticas que funcionan bajo situaciones de campo y que están disponibles comercialmente (como la vacuna contra la pseudorrabia, la de *E coli*, y la vacuna contra la toxina de *Pasterella multocida*).
2. Vacunas experimentales: Estos productos pueden abrirse paso hacia la primera categoría, resultan prácticas después de haber sido probadas.
3. Las vacunas que no tienen probabilidades de ser efectivas ni comercialmente exitosas, como ocurre con las vacunas contra influenza y salmonelosis porcina.

En la actualidad para humanos existen dos vacunas: una para administración oral y otra parenteral. Están indicadas para personas que viajan a regiones endémicas, para los que viven en regiones de alta incidencia, para los que habitan en situaciones de condiciones sanitarias y para los contactos caseros. (Borrego y cols, 1992)

Para la infección contra *Salmonella choleraesuis* los laboratorios han diseñado una vacuna SC-54 con la cual se han hecho experimentos y los datos indican que esta vacuna reduce el contagio: es una vacuna 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, 1998)

Es necesario 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 posteriormente revacunaciones con antígenos inactivados. (W.Scöil y cols, 1984):

En general, las vacunas frente a *salmonellas* no han proporcionado protección inmunitaria adecuada en cerdos. (Charles, 1991). El uso de vacunas ha demostrado solo la disminución de infecciones y se ha observado beneficios reduciendo la enfermedad y mortalidad. (Bosworth y cols, 1998)

1.14 CONTROL

Para establecer medidas de control adecuadas contra *Salmonella* hay que partir de dos herramientas básicas: el análisis estadístico y el método de diagnóstico. Debe contarse con un plan de muestreo y calcularse el tamaño de las muestras de forma eficaz. Asimismo, un método de diagnóstico efectivo y confiable al 100% nos permitirá establecer un programa de erradicación.

El problema se agrava porque los cerdos pueden infectarse en los corrales del matadero y porque la maquinaria del rastreo también se encuentra contaminada. (Darwich y cols, 1999)



Fig 5: En la foto se observa una granja con una gran cantidad de animales en condiciones no adecuadas.

1.14.1 CONTROL DE *Salmonella* A NIVEL DE GRANJA:

El primer paso es conocer la incidencia y localización de la infección en la explotación y que serotipos están involucrados.

Se debe considerar que todos los principios básicos de bioseguridad, higiene y manejo de los animales deben contemplarse en todo momento.

1. Reducir el riesgo de introducción de *Salmonella* en la granja: No se puede plantear ningún programa de control si la infección está siendo constantemente reintroducida. Todas las medidas de bioseguridad relativas de control de transporte, rutinas de carga, dachas y cambio de ropa, eliminación de animales muertos, control de roedores y pájaros, control de agua, etc, deben respetarse en todo momento. El alimento es una vía potencial de entrada de *Salmonella* en granjas y deben establecerse controles de calidad rutinarios.

2.Reducir el nivel de contaminación ambiental:

-Higiene: Se deben de revisar los protocolos de lavado y desinfección de las instalaciones considerando el riesgo en presencia de animales al poder diseminar la infección mediante la creación de aerosoles.

-Reducir la excreción por portadores, control de estrés: Minimizar los factores estresantes debido al ambiente (corrientes de aire, temperaturas inadecuadas, falta de agua o comida, mezcla de animales) que incrementen la excreción por parte de los animales infectados.

3.Reducir la diseminación dentro de la granja: El objetivo es minimizar el contacto de los animales con las de infección potenciales. Entre ellas se incluyen; ubicación de las enfermerías minimizando la exposición del resto de los cerdos, asignación de corrales exclusivos como enfermerías, adecuada gestión de cuarentena, asignación de material de trabajo para uso exclusivo en estas zonas y lavarse las manos tras manejar a los portadores.

4. Incrementando la resistencia a la infección: Distintos factores están afectando este grado; que demuestran los animales frente a la infección por *Salmonella*. Entre los distintas posibilidades están el factor genético, el uso de vacunas, el uso de prebióticos. Diferentes factores relacionados con la alimentación están afectando dicho nivel.

La higiene en el manejo de los animales desde la incubadora hasta el sacrificio, así como la descontaminación de piensos y sus materias primas, son dos vías obligadas para reducir la incidencia de estas contaminaciones en los productos porcinos. (Porta, 1999)

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.

Para reducir la contaminación de los cerdos sanos por los animales infectados, 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 carne. (Wingstrand y cols, 1998)

Otras medidas de control incluyen el adquirir alimento de compañías que controlen el microbismo de los 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)

El centro de zoonosis en Dinamarca ha elaborado un programa de control de *Salmonella* en cerdos. Los controles de la enfermedad se han realizado en rebaños, en la alimentación de animales infectados y en la diversificación de animales (los animales y productos se procesan de forma diferente dependiendo del tipo de *Salmonella*). Las principales medidas descritas en dicho programa de control son de aplicación a la mayoría de países industrializados con modernas granjas de explotación intensiva. (Elikaberry, 2003)

El tema de seguridad alimentaria es vital para todos los sectores relacionados con la cadena de carne. Para que un programa de control sea efectivo, debe de existir un compromiso por parte de los distintos segmentos.

El empleo de vacunas está ampliamente difundido en todo el mundo, especialmente las inactivas. Sin embargo, se están introduciendo cada vez más las formas vivas. La experiencia demuestra que las vacunas contra *Salmonella* en combinación con otras medidas higiénicas y de manejo, son útiles en el control de las *Salmonellas*. (Porta, 1999)

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 llegar a 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 más contaminación.(Blaha, 1998)

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)

La sanitización de las granjas a largo plazo va a ser benéfica a la humanidad principalmente a los consumidores. (Blaha, 1998)

1.15 PROBLEMA DE SALUD PUBLICA

La vigilancia de rutina de enfermedades importantes por los departamentos de salud pública se denomina vigilancia de las enfermedades.

El control de las infecciones producidas por Enterobacterias tipo *Salmonella*, es un problema de salud pública que ha adquirido una relevancia creciente en las últimas décadas.

Sin embargo, la mayoría de las infecciones transmitidas por los alimentos pasan sin diagnosticar porque no se efectúa un diagnóstico específico.

La infección por *Salmonelas* de los cerdos es la principal fuente de contaminación de la carne y de los productos cárnicos, a través de los cuales puede llegar al hombre. Es una de las zoonosis principales de origen alimentario. (Wolfgang y cols, 1993)

Además de la enfermedad en el animal, la salmonelosis en los cerdos tiene una importante repercusión en la comunidad como problema de salud pública. Aunque *S choleraesuis* raramente se involucra en problemas de humanos, cuando lo hace, estos tienden a ser de gran severidad.

La infección por *Salmonela* se encuentra extendido en un gran sistema y continúa existiendo en altos niveles sobre todo para la productividad.

Las enfermedades infecciosas como la fiebre tifoidea continúan representando un problema de salud pública en los países en vías de desarrollo. Esto hace imprescindible implementar estrategias de prevención y control para el mejoramiento de las condiciones sanitarias de la población. (Dougan y cols, 1987)

El animal portador es un problema grave en todas las especies huésped. La enfermedad se produce en todo el mundo entero y la incidencia está aumentando con la intensificación de la producción del ganado. (Otto, 1981)

La efectividad del programa de inmunización fue controlado por el Instituto de Vacunas de Dessau y grupos de colaboradores de numerosos institutos departamentales de Medicina Veterinaria, durante años y en determinadas aplicaciones experimentales. (W.Scöll y cols, 1984)

Las pérdidas generadas por la enfermedad son la consecuencia de la alta mortalidad, retraso en el crecimiento, incremento en los índices de conversión alimenticia y por supuesto en los costos por medicaciones. (Cano, 2001)

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. (Euzaby, 1999)

1.16 JUSTIFICACIÓN

La Salmonelosis porcina se disemina con mucha facilidad dentro de la granja y tiene un alto impacto económico en el sector porcícola, debido a que el agente *Salmonella choleraesuis* se encuentra distribuido en todo el mundo y en nuestro país causa severas consecuencias ya que tiene una alta mortalidad junto con las infecciones de vías respiratorias, y casi siempre los cerdos están infectados con otro serotipo de *Salmonella* o infectados con otra bacteria.

Este problema de salud pública se debe de eliminar y de dar más información al respecto ya que es una enfermedad zoonótica y puede tener un alto impacto en los seres humanos que consuman carne contaminada con este serotipo en especial. Los cerdos pueden ser muy susceptibles a contraer la enfermedad o a ser portadores sanos y así diseminarse por toda la granja ocasionando un problema grave si no es diagnosticado y tratado a tiempo.

En los cerdos los problemas del tracto respiratorio como los del digestivo son muy comunes y casi siempre están infectados en los dos aparatos, por este motivo se debe de tener información adecuada de cómo manejar a los animales en las granjas y piensos a las diferentes edades.

Hasta el momento no se tiene una vacuna 100% efectiva para eliminar a la *Salmonella*, se deben desarrollar métodos más efectivos y vacunas adecuadas para poder atacar a este agente para no tener pérdidas económicas y mucho menos una zoonosis.

Con el presente trabajo se pretende comparar tres técnicas de Diagnóstico serológico para descartar la (las) técnica menos confiable y utilizar la más rápida, la más fácil, menos costosa, para detectar *Salmonella choleraesuis* a tiempo en animales infectados o enfermos; disminuyendo la mortalidad, evitando su diseminación y tener menos pérdidas económicas en las granjas.

1.17 HIPÓTESIS

Si *Salmonella choleraesuis* es una bacteria que produce salmonelosis constantemente en el ganado porcino y se propaga con facilidad, entonces se necesita una técnica de diagnóstico rápida, confiable, confirmatoria y segura para las granjas con un alto nivel de producción animal.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar tres técnicas de diagnóstico serológico para *Salmonella choleraesuis* en cerdos de diferentes granjas.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

Identificar que tipo de respuesta inmunológica presentan los animales de acuerdo al diagnóstico serológico empleado.

Observar la frecuencia de Salmonelosis en el ganado porcino y si puede estar relacionada con otra enfermedad.

Conocer las ventajas y desventajas de cada una de las técnicas de acuerdo al trabajo experimental.

3. MATERIAL Y METODOS.

3.1 Cepa.

En este trabajo se utilizó una cepa de *Salmonella choleraesuis* (Sch) vacunal (10/09/02).

3.2 Aislamiento.

La cepa de *Salmonella choleraesuis* se sembró en agar BHI; se incubó a 37°C-24 hrs.

3.3 Identificación.

Al cultivo se le realizó: Gram, indol, motilidad, nitratos, urea, citratos, H₂S, MR-VP para confirmar la identificación de *Salmonella choleraesuis*. (Royer y Stanier, 1986)

Ya que se confirmó la identificación de *Salmonella choleraesuis*, se procede a resembrar en tres cajas de agar BHI y agar sangre por el método de sembrado masivo, se incubó a 37°C-24 hrs, para obtener un crecimiento favorable de la bacteria para la preparación del antígeno.

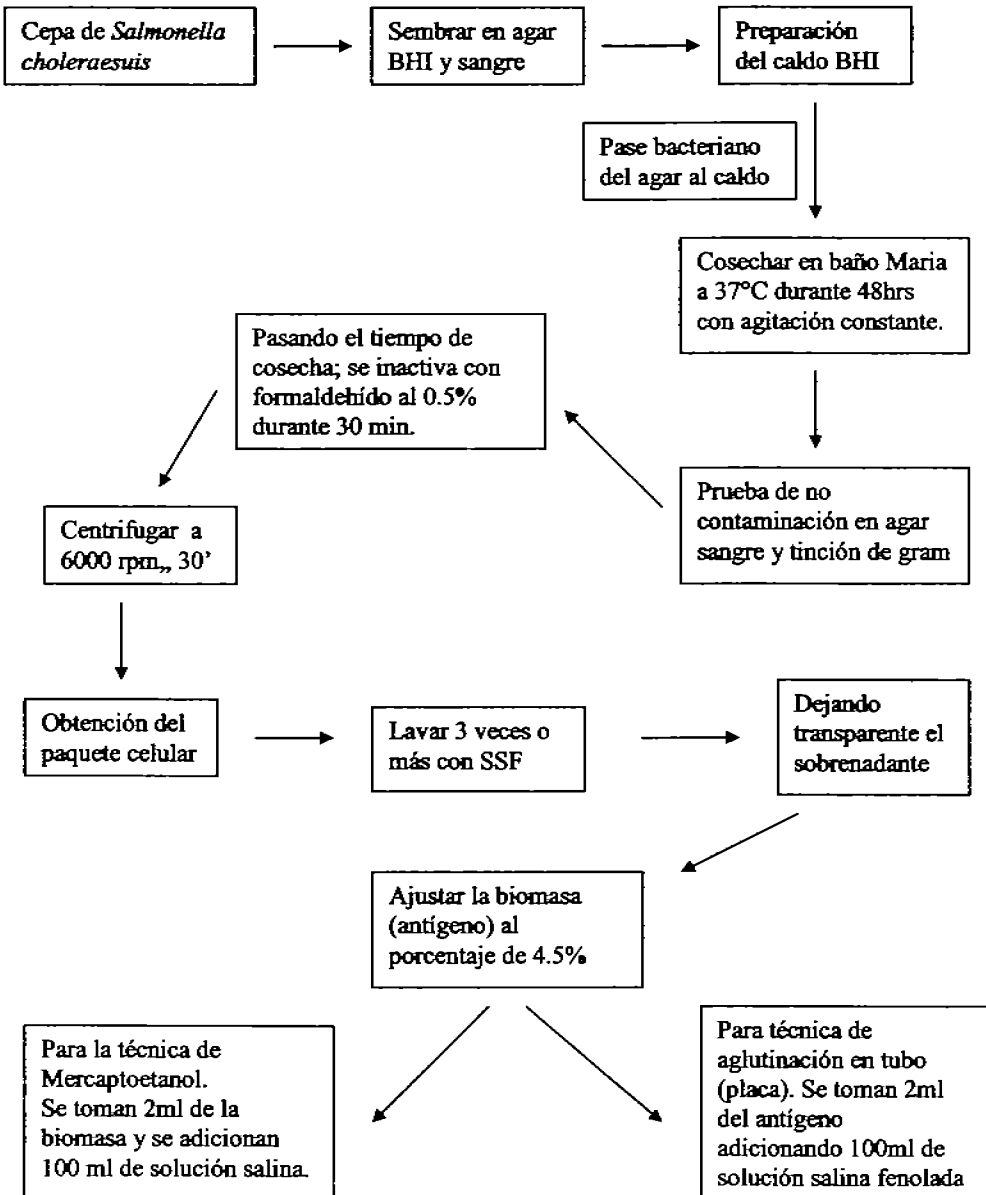
3.4 Preparación del antígeno.

a) Una vez obtenido un buen crecimiento de *Salmonella choleraesuis*, se preparó un medio en caldo enriquecido (BHI) porque contenía varios nutrientes (peptonas, carne, levaduras, etc) el cual se esterilizó en la autoclave a 15lb a 121°C durante 15 minutos. Se dejó enfriar y se colocó en la estufa bacteriológica a 37°C durante 24 hrs para la prueba de esterilidad.

b) Ya que pasó la prueba de esterilidad, de las cajas ya sembradas en BHI y agar sangre se realizó un pase de la placa al matraz con ayuda de una espátula, raspado el crecimiento y colocándola en el caldo con una jeringa; en condiciones de esterilidad para evitar la contaminación. Después de realizado el pase, se cosechó y se incubó en baño María a 37°C durante 48 hrs con agitación constante y suave.

c) Se obtuvo un crecimiento abundante, del cual se tomó una muestra y se sembró en agar sangre; se realizó un Gram para saber si hay una posible contaminación del medio. En caso de que no haya contaminación se prosigue con lo siguiente.

Diagrama 1: Preparación y obtención del antígeno de *S. choleraesuis* para las técnicas de 2-ME y aglutinación en placa con SSF. Se siembra la cepa de *Salmonella*, se cosecha; para realizar los lavados y centrifugación, ajustándolo al porcentaje adecuado, para ser utilizado.



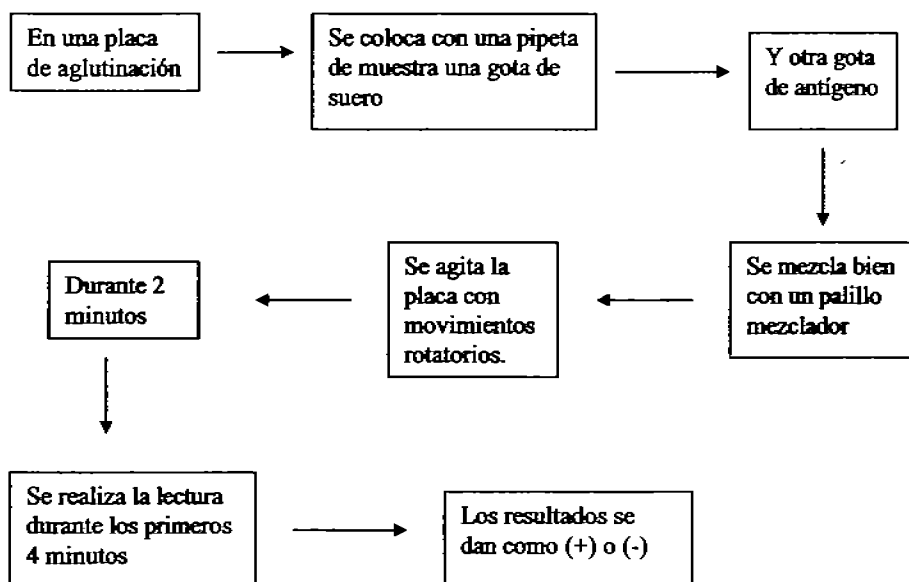
3.5 Evaluación de los sueros.

Se trabajaron 846 sueros de cerdos de diferentes granjas y edades de todo el país; se realizaron las tres técnicas de diagnóstico serológico a todos los sueros; ya que se obtuvo el antígeno y se preparó para cada técnica (aglutinación en placa y 2-Mercaptoetanol), se procedió a realizar las pruebas de aglutinación; para la técnica de serotipificación el antígeno fue proporcionado en el laboratorio.

3.6 Técnica de Serotipificación.

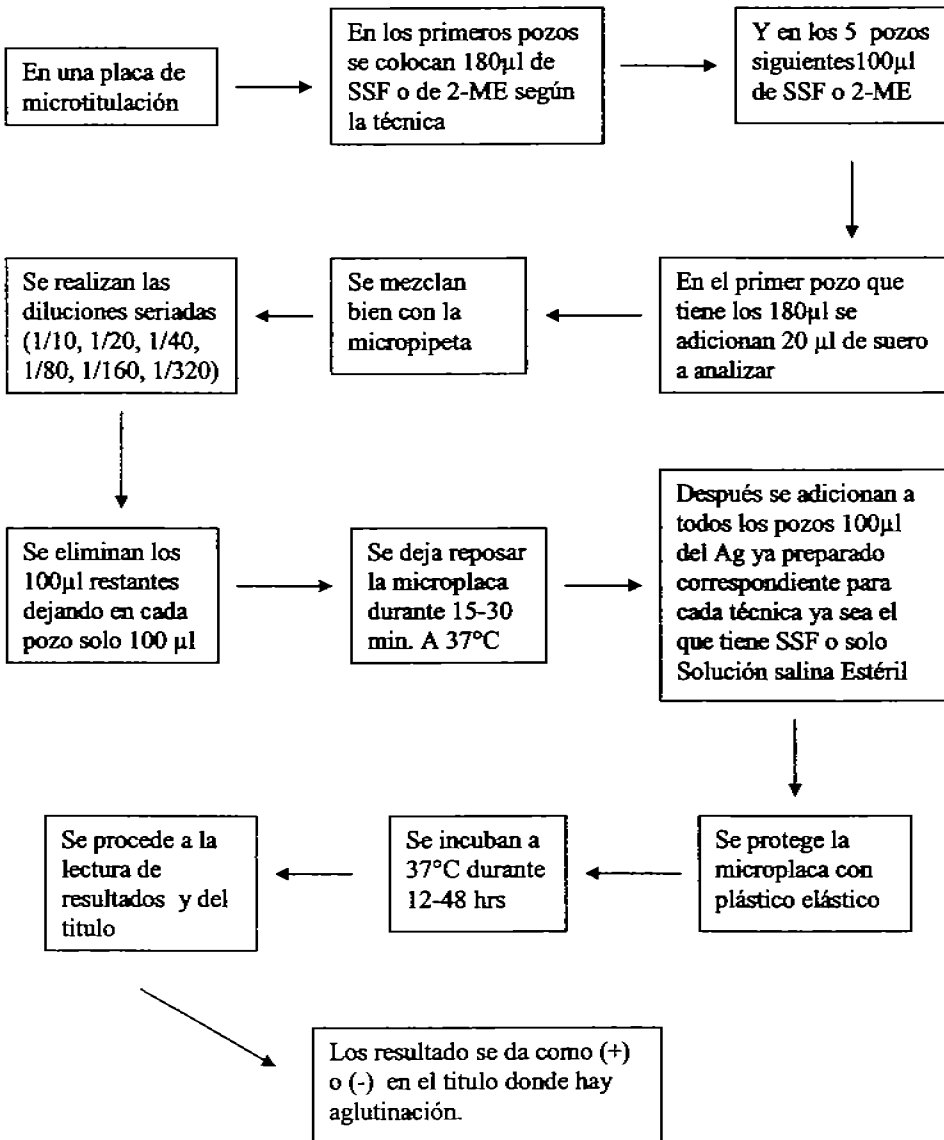
La serotipificación alude a los procedimientos serológicos que se emplean para diferenciar cepas (serovariedades o serotipos) de microorganismos que difieren en la composición antigénica de una estructura o producto. (Prescott, 1999)

Diagrama 2: La técnica de Serotipificación se realiza en una placa de aglutinación, donde se coloca una gota del suero y una gota del Antígeno, para poder observar la aglutinación o positivo para *S. choleraesuis*.



3.7 Técnica de aglutinación en tubo(placa) con solución salina fenolada y la técnica con 2-Mercaptoetanol.

Diagrama 3: Estas dos técnicas se realizan en placas de microtitulación, donde se colocan las cantidades correspondientes de suero y reactivos, para cada una de las pruebas cuantitativas, dejando reposar 30 min, posteriormente se adiciona el Ag ya preparado para cada técnica; observando al día siguiente la aglutinación positiva o negativa.



4. RESULTADOS

TABLA 1: Con estos resultados de las pruebas bioquímicas primarias y secundarias se logro la identificación de la bacteria *Salmonella choleraesuis* ya que todos los datos coinciden en los reportados en la bibliografía con los experimentales.

Pba. Bioquímicas	Prueba	Bibliografico	Experimental
Primaria	Gram	Bacilo Gram negativo	Bacilo Gram negativo
Secundaria	Indol	Negativo	Negativo
Secundaria	Motilidad	Positivo	Positivo
Secundaria	H2S	Positivo	Positivo
Secundaria	Urea	Negativo	Negativo
Secundaria	MR	Positivo	Positivo
Secundaria	VP	Negativo	Negativo
Secundaria	Citratos	Negativo	Negativo
Secundaria	Nitratos	Positivo	Positivo

TABLA 2: se muestran los resultados generales de las tres técnicas de aglutinación tanto cualitativa como las cuantitativas; así como los títulos que se obtuvieron durante la experimentación.

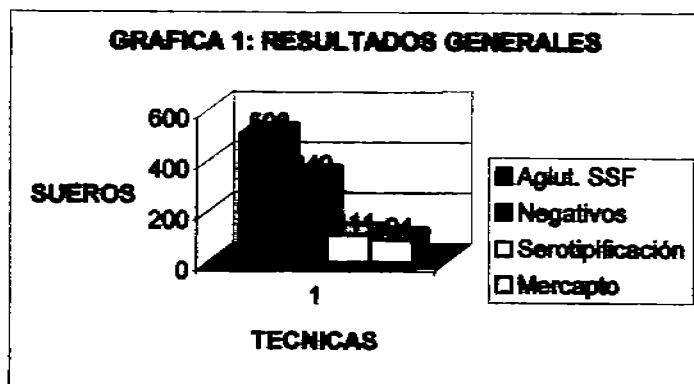
Título	Tec. 2-ME	Tec. SSF	Serotificación
1/10	84	210	-
1/20	9	222	-
1/40	1	57	-
1/80	-	17	-
1/160	-	-	-
1/320	-	-	-
Positivos totales	94	506	111
Negativos totales	752	340	735
	846	846	846

Se observa que la técnica que tuvo mayor número de resultados positivos fue la aglutinación en placa con SSF, y es de esperarse ya que esta técnica detecta tanto anticuerpos de tipo IgG como IgM, se compararán con las otras técnicas para saber cuantos cerdos son los que están infectados al inicio de la enfermedad.

En la grafica 1 se observa que 340 sueros son negativos y que solamente 434 sueros de los 846 totales coinciden en las tres técnicas, esto se debe a que detectan diferentes anticuerpos cada una de las técnicas.

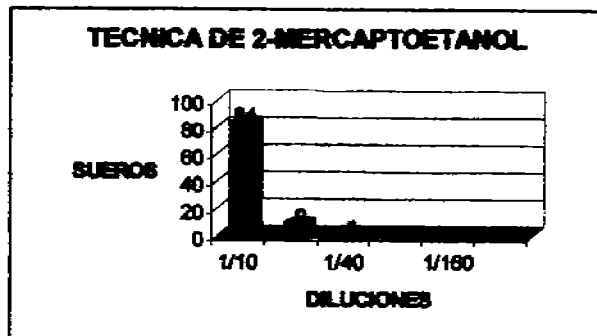
De los sueros positivos para *Scf* el 59.81% fue detectado por la técnica de aglutinación con SSF, el 13.12% Serotipificación y el 11.11% 2-ME siendo el 40.18% de sueros negativos.

GRAFICA 1: RESULTADOS DE LAS TRES TECNICAS



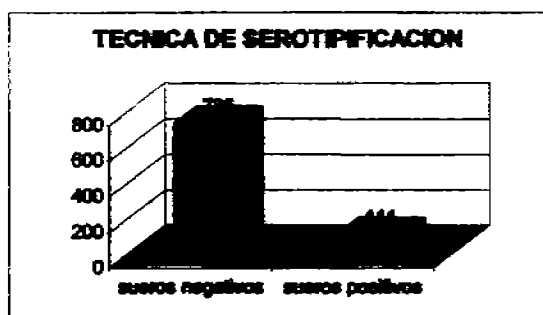
En la grafica 2 se muestran los resultados de la técnica de 2-ME, en la cual se obtuvo un solo resultado en la dilución 1/40 y con el mayor número la de 1/10, en total de resultados positivos en la técnica son de 94 sueros positivos en total, que comparados con la serotipificación (111 sueros positivos) hay 17 sueros de diferencia.

GRAFICA 2: TÉCNICA DE 2-MERCAPTOETANOL



En la grafica 3: se muestra que la técnica es cualitativa y la más rápida de realizar de las tres, indica si esta presente el anticuerpo o no; además de identificar Anticuerpos IgG. De los 846 sueros el 13.12% (111 sueros) son positivos lo cual nos indica que 111 cerdos están enfermos de *Salmonelosis*, esto se deduce porque los Anticuerpos de tipo IgG se comienzan a producir específicamente además de ser monoméricos después de dos semanas de haber sido infectados y ya se presenta la sintomatología de la enfermedad; el 86.87% nos indica que 735 cerdos no están enfermos de *Salmonelosis*; esto no quiere decir que no estén infectados, muchos de estos negativos pueden ser portadores sanos y pasar por desapercibidos hasta que presentan algún signo o síntomas.

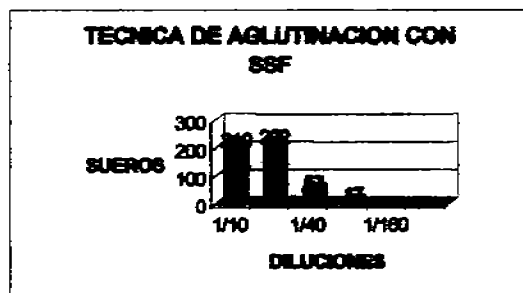
GRAFICA 3: TÉCNICA DE SEROTIPIFICACION



En la grafica 4 se observa que en esta técnica fue donde se obtuvieron mayor número de sueros positivos en las diferentes diluciones, y es de esperarse ya que la técnica detecta anticuerpo tanto IgM que son los Anticuerpos que se presentan al inicio de la infección como IgG que se presentan después de dos a tres semanas de haber sido infectados y ya presentan la enfermedad con signos y síntomas.

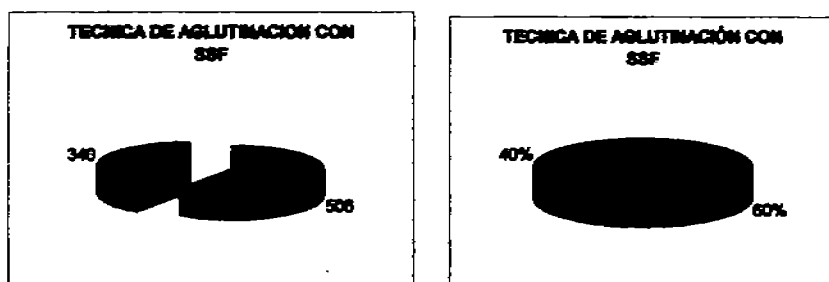
El mayor número de sueros positivos fue en la dilución 1/20 que fueron 222, seguido de la 1/10 con 210, posteriormente 1/40 con 57 y por último la de 1/80 con 17 sueros solamente.

GRAFICA 4: TÉCNICA DE AGLUTINACIÓN CON SOLUCION SALINA FENOLADA



En la gráfica 5 se observa el alto índice de *Salmonella choleraesuis* que hay en las granjas, de los 846 sueros totales analizados el 60% (506 sueros) son positivos con diferentes diluciones; solo en esta técnica sucedió esto y es por lo que ya se menciono por los dos tipos de Anticuerpos que son detectados por este método serológico; cabe mencionar que el alto porcentaje es de alarmarse por que con otras técnicas que solo detectan Ac de tipo IgG no se podrán diagnosticar; además los cerdos están infectados y es un foco de infección por ser portadores sanos ya que no presentan signos ni sintomatología en la etapa temprana y el cerdo puede ser infectado a cualquier edad; el 40% (340) de los sueros son negativos de acuerdo a los datos obtenidos experimentalmente en esta técnica, como se puede dar cuenta hay un mayor número de cerdos infectados o enfermos que sanos y a esto hay que añadirle que pueden estar infectados con otro serotipo o bacteria tanto del tracto digestivo como del respiratorio que son los de mayor índice de mortalidad en las granjas.

GRAFICA 5: SUEROS POSITIVOS Y NEGATIVOS TOTALES Y EN PORCENTAJE EN LA TÉCNICA DE AGLUTINACIÓN EN PLACA CON SSF.



En la gráfica 6 se presentan solo los porcentajes de los sueros que coinciden en las dos técnicas, ya que solo el 2.00% no coincide; 17 sueros son la diferencia pero estos son positivos en la prueba de serotipificación y en la de 2-ME negativos, los cuales se repitieron dos veces más para confirmar los resultados; y comparándolos con la técnica de aglutinación SSF salieron positivos estos 17 sueros, lo cual nos indica que la técnica de 2-ME produce muchos falsos negativos.

GRAFICA 6: COMPARACION DE LAS DOS TÉCNICA QUE DETECTAN Ac IgG.



En la grafica 7 se observa que 506 sueros son positivos en la técnica de aglutinación (SSF), menos 111 sueros positivos en la técnica de serotificación nos da un total de 395 sueros positivos en la técnica de aglutinación (SSF), que no son detectados por ninguna de las otras técnicas; los resultados obtenidos demuestran el alto índice de cerdos infectados no detectados a tiempo es por esto las pérdidas económicas y la alta incidencia de *Salmonella* en las granjas no solo a nivel nacional si no mundial.

El 22% de esta comparación son detectados por las tres técnicas cabe mencionar que en menor por la técnica de 2-ME, y el 78% solo son detectadas por la aglutinación en placa con SSF.

GRAFICA 7: COMPARACIÓN DE LOS SUEROS (+) Y (-) DE LAS TÉCNICAS DE SEROTIPIFICACION Y AGLUTINACIÓN EN PLACA CON SSF.



5. DISCUSION

A nivel de granjas se debe de tener muchos cuidados con la bacteria que produce Salmonelosis y otras que atacan el tracto respiratorio del cerdo; las granjas son lugares en donde se tiene gran cantidad de animales concentrados en un mismo cuarto, por este motivos se vuelven más susceptibles los cerdos ya que están estresados, hace calor, no alcanzan a comer y beber agua. Se deben tomar medidas de higiene y concentración de animales más adecuadas para evitar la infección en manadas, para ir eliminando las enfermedades mortales para estos animales y tener una mejor calidad y producción de animales para el consumo de su carne en todo el país.

El genero *Salmonella* es uno de los más estudiados y comprende un gran número de especies (serotipos), pero cuya identificación tiene importancia en estudios epizootiológicos. (Barnes y cols, 1979)

El resultado de la interacción entre el hospedador y los microorganismos del genero salmonella depende del grado de resistencia a la colonización del hospedador, de la dosis infectante y de la especie en concreta de *salmonella*. (Hirsh, 1994)

En la técnica de Serotipificación cuando se forma un inmunocomplejo por el entrelazado entre células o partículas por anticuerpos específicos, recibe el nombre de reacción de aglutinación, y el anticuerpo responsable es una aglutinina. Las reacciones de aglutinación suelen formar agregados visibles o grumos (aglutinados) que se pueden ver a simple vista. Las reacciones de aglutinación directas son muy útiles para el diagnóstico de ciertas enfermedades. (Rojas, 2001)

Si un cerdo se encuentra infectado con *Salmonella choleraesuis*, se utiliza el reactivo que contiene el antígeno contra esta bacteria específica de cerdo. Los resultados son cualitativos y solo se detectan Ac de tipo IgG, en donde las placas de los animales infectados presentarán la aglutinación indicando el resultado positivo.

La lectura de la prueba de Serotipificación se realiza antes o al término de 4 minutos (Juárez, 2002). Si el suero presenta aglutinación se representa como (+), y en los animales sanos el suero se observa una mezcla indicando que el resultado es negativo (-).

Las pruebas de aglutinación se emplean también para medir títulos de anticuerpos. En la prueba de tubo o en pocillos, se añade una cantidad específica de antígeno a una serie de tubos o pocillos de una placa de microtitulación. Después se añaden en cada tubo o pocillo diluciones seriadas de suero a estudiar (1/10, 1/20,.....1/320) que contienen los anticuerpos. Se determina la máxima dilución del suero que muestra una reacción , y el recíproco de esta dilución se denomina título o potencia del suero. (Prescott, 1999) Como en el caso de las técnicas de 2-ME y aglutinación con SSF.

En la técnica cuantitativa de 2- Mercaptoetanol (2-ME) solo se detectan anticuerpos IgG de *Salmonella choleraesuis*. Este método se basa en que los Ac IgG son resistentes al 2-ME. Por lo tanto hay una inactivación de Ac IgM por la reducción de 2-ME, ya que estos Ac son sensibles, es un método sencillo utilizado comúnmente para eliminar los Ac IgM, dejando intactos a los Ac IgG y así ser detectados por la técnica y poder analizar la cantidad de Ac presentes en el suero. (Mittal y cols 1984) (Capel y cols, 1980)

En la técnica cuantitativa de aglutinación en placa con solución salina fenolada (SSF) se detectan tanto anticuerpos IgG como IgM contra *Salmonella choleraesuis* ya que no existe ninguna inactivación con SSF. (Smits, 2002) Con la comparación de las técnicas se podrá determinar los cerdos que se encuentren en la etapa temprana de la enfermedad.

La placa se lee contra la luz, y se observa por debajo de la microplaca sin mucho movimiento; si hay aglutinación en los pozos se observa una floculación lo cual nos indica que el suero es positivo (+) y el título en el cual se presenta; si es negativo (-) se observa un botón al fondo del pozo lo cual nos indica la presencia solo del antígeno. Se determina la máxima dilución del suero que muestra una reacción de aglutinación, y el recíproco de esta dilución se denomina título o potencia del suero.

En la Aglutinación con SSF hay 506 sueros positivos de los 846 solo 340 sueros negativos, esto quiere decir que cerca del 60% de los cerdos esta infectados por *Salmonella choleraesuis* pero no todos tienen la enfermedad de Salmonelosis ya que muchos cerdos no presentan los síntomas, son portadores y fuente de infección en las granjas siendo así una amenaza importante para la producción animal de esta especie y para la economía porcícola.

De los sueros analizados 111 cerdos son los que presentan la enfermedad por el tipo de anticuerpos en los sueros, ya que se detectaron Ac IgG y esta inmunoglobulina solo se presenta cuando ya esta la enfermedad; de las tres técnicas que analizan este tipo de Ac en dos son positivos los 111 sueros y solo en la de 2-ME 17 sueros son negativos y con esta técnicas si se puede dar un diagnóstico erróneo por la cantidad de falsos negativos en esta etapa de la enfermedad.

La diferencia de cerdos que no presentan la enfermedad son 395 pero si esta presente la bacteria ya que los sueros positivos en la técnica de aglutinación con SSF que analiza Ac de tipo IgM que estén presentes al inicio de la infección y en esta etapa no presentan sintomatología y son portadores sanos además de ser una bacteria que ataca a todas las edades siendo más susceptibles los cerdos en el destete; es un foco de infección muy importante para los consumidores de esta carne, ya que es una zoonosis rara en humanos, pero si llega a infectarse tiene consecuencias graves.

Estos sueros si son detectados por la técnica de aglutinación con SSF ya que puede detectar Ac de tipo IgG como IgM, no se puede decir que los sueros de estos animales estaban en la fase temprana de la enfermedad ya que si no hubieran salido negativos en la técnica de serotipificación que solo detecta Ac IgG.

La técnica de 2-ME desde el punto de vista experimental no es muy confiable aunque coincidan 829 (97.99%) sueros de los 846 con la serotipificación ya que se producen muchos falsos negativos y ningún falso positivo, esto nos indica que la técnica tiene un mayor rango de error que las otras dos técnicas.

La serotipificación nos ayuda a la identificación de serovariedades o serotipos que presentan las bacterias por sus determinantes antigénicos; es una técnica rápida, sencilla y fácil de realizar; además se puede analizar en suero o con sangre completa pero con otro tipo de colorante al utilizado con sueros.

La única desventaja que presenta esta técnica es que solo detecta Ac IgG las cuales están presentes en el suero después de haber pasado de 2-3 semanas de haber sido infectado y durante este tiempo estos cerdos infectados son portadores y son una alta fuente de infección; se sabe que la *Salmonella choleraesuis* es diseminada con facilidad en las granjas por las características que presentan y por la cantidad de animales concentrados en esta; en cuanto a la edad de poder ser infectado son más susceptibles los cerdos en la lactancia o en el destete, aunque hay cerdos de todas las edades infectados por *Salmonella choleraesuis*. Cuando se analiza el suero si esta en la etapa inicial o temprana de la enfermedad no es detectada por los Ac que se presentan es esta fase que son de tipo IgM.

Como ya se menciona en la técnica de 2-ME los 17 sueros que son negativos de los cuales estos sueros son positivos en la técnica de aglutinación con SSF con una alto titulo de anticuerpo presente todos los sueros fueron 1/40 y 1/80; y este titulo nos indica que hay presencia de Ac IgG, los cuales no fueron detectados en la de 2-ME, con esto se confirma todos los falsos negativos que se presentaron, por la comparación de las técnicas de serotipificación y aglutinación con SSF.

Los 506 sueros positivos en la aglutinación con SSF con sus respectivas diluciones nos indican la presencia de los dos Ac (IgM, IgG), pueden estar los dos en un mismo suero o solo uno, si se encuentran los dos presentes se encuentran en la fase donde se dejan de producción Ac IgM y el sistema inmune junto a los linfocitos comienzan a producir específicamente Ac IgG; si se produce solo uno hay que saber cual, para decir en que fase de la enfermedad se encuentran con respecto al tipo de Ac que se analice.

Las técnicas más factibles para un confiable y buen diagnóstico son la Serotipificación y aglutinación con SSF, con estas dos técnicas se puede detectar si esta infectado o tiene la enfermedad el cerdo ya que en estas no se presentaron falsos positivos ni falsos negativos; sin en cambio en la técnica de 2-ME 17 sueros fueron falsos negativos y estos son importantes por el foco de infección que presentan.

Las dos técnicas mencionadas son un complemento para diagnosticar la salmonelosis como infección o como enfermedad ya que la prueba de serotipificación solo detecta Ac IgG, y la aglutinación con SSF detecta tanto IgM como IgG, además de ser una cualitativa y otra cuantitativa respectivamente.

La *Salmonella choleraesuis* es una bacteria zoonótica que rara vez se puede involucrar en humanos, cuando esto sucede es de gran severidad. El problema se agrava porque los cerdos tienden a infectarse en los corrales del matadero y la maquinaria del rastro puede contaminarse. (Morilla, 1994)

Aunque muchos cerdos no están infectados con *Salmonella choleraesuis*, pero presentan la sintomatología de la *salmonella* esto nos indica que esta presenta otro tipo de *salmonella* y que esta relacionada con infecciones gastrointestinales.

Los cerdos infectados la mayoría de las veces tiene dos o más tipos de *salmonella* además de presentar otro tipo de microorganismos como virus u otras bacterias presentes en el tracto respiratorio, es por eso que el Diagnóstico y Tratamiento se complica más aún, porque se tiene que atacar no solo una enfermedad sino varias y de diferentes aparatos ya sea el digestivo o respiratorio que tienen una alta mortalidad en el sector porcícola.

Los Veterinarios y Porcicultores deben de estar concientes de este problema y hacer un esfuerzo por identificar a los reactores y fuentes de contaminación con el propósito de eliminarlos, evitando graves pérdidas económicas en este sector.

Los animales pueden ser portadores asintomáticos sin causarles la enfermedad y la inmunidad que induzca no sea absoluta pudiendo infectar a otro animal sin causarle la enfermedad. Es por eso que la serología tiene un papel importante en el control de las enfermedades y determinar si están infectados por microorganismos potencialmente patógenos. (Torres, 1995)

Se recomienda el empleo de perfiles serológicos o seroperfiles los cuales se basan en la detección de porcentajes de cerdos que están enfermos y cuantos son asintomáticos, establecen un monitoreo en un plazo de 3-6 meses con el fin de mejorar cada día las medidas de control. (Morilla, 1994)

En los sueros, las pruebas positivas con la formación de grumos o de mallas después de cierto tiempo, al llevarse a cabo la reacción Ag-Ac; y la interpretación de esta prueba; son positivos los sueros de animales que presenten cualquier grado de aglutinación y son negativos aquellos que no muestran aglutinación. Con los resultados obtenidos se dice que en la granja existe o no la presencia de *Salmonella choleraesuis* (Juárez, 2202)

Las técnicas realizadas para la detección de *Salmonella choleraesuis* tienen ventajas sobre otras pruebas de laboratorio porque nos permite tener resultados confiables y rápidos, no requiere de un equipo sofisticado o tecnología de punta, para poder realizar las pruebas; saber si hay infección en los cerdos de una granja y así establecer medidas de control, vacunación, higiene, producción animal para erradicar completamente la Salmonelosis como enfermedad, y no solo esta sino todas las enfermedades presentes en una granja.

El animal portador clínicamente normal es un problema grave en todas las especies huésped. La enfermedad se produce en todo el mundo y la incidencia esta aumentando con la intensificación de la producción del ganado. (Otto, 1981)

Las pérdidas generadas por la enfermedad son la consecuencia de alta mortalidad, retraso en el crecimiento, incremento en los índices de conversión alimenticia y en los costos por medicaciones (Cano 2001)

La tasa de prevalencia y distribución en el país es alta. Por esta razón se debe implementar mejores medidas de manejo y sanidad, y se podrá reducir la presencia de dicho agente infeccioso.

Los cerdos infectados se mantienen como portadores del agente y pueden excretarlo en forma intermitente, por el resto de sus vidas, por esta razón se hace muy difícil la eliminación de la enfermedad. Por lo tanto las técnicas diagnósticas y el control de la enfermedad por vacunación, limpieza y desinfección en las granjas deben de mejorar. (Cano, 2001)

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)

La Salmonelosis generalmente es diagnosticada por el laboratorio de microbiología a través del aislamiento y una combinación de parámetros bioquímicos, serológicos y físicos para la identificación específica. (Moselio, 1994)

Los cerdos infectados pueden ser detectados en las granjas con un método serológico rápido utilizando sangre total o suero y un antígeno coloreado en una prueba rápida de aglutinación en placa, aunque las infecciones identificadas mediante este método deben ser confirmadas mediante una técnica bacteriológica clásica.

Las vacunas frente a salmonellas no han proporcionado protección inmunitaria adecuada en cerdos. El uso de vacunas ha demostrado solo la disminución de infecciones y se ha observado beneficios reduciendo la enfermedad y mortalidad. (Charles, 1991; Boswordt y cols, 1998)

Para que un programa de control sea efectivo debe existir un compromiso por parte de los distintos segmentos que participan en la producción del ganado; como son los Veterinarios, Porcicultores y los Químicos para llevar un monitoreo de las distintas enfermedades y llevar un mejor control de todos los animales en la granja; teniendo pruebas de diagnóstico rápidas y confiables, para que el Veterinario pueda dar un Tratamiento a tiempo y adecuado para evitar pérdidas animales eliminando posibles portadores y la contaminación de toda la granja; el cuidado de los porcicultores es de suma importancia ya que tiene constante contacto con los animales y puede infectarse por falta de higiene en la granja y cuidados en la misma.

En los rastros de Estados Unidos utilizan la prueba serológica ELISA(MIX-ELISA), esta consta de un Ag de superficie de *Salmonella* y detecta niveles altos de Ac y altos porcentajes de cerdos infectados con *salmonella*. (Nielsen y cols, 1998). La prueba de MIX-ELISA es muy elevada en cuanto a costos, por este motivo en algunas granjas de México no se realiza esta prueba y no se lleva un monitoreo adecuado. Las pruebas de serotipificación y aglutinación con SSF son rápidas, sencillas, sensibles y específicas para *Salmonella choleraesuis*, además de ser económicamente más barata en comparación de una ELISA o una PCR; pueden presentar resultados confiables y parecidos.

Para poder establecer los perfiles serológicos a nivel de campo es recomendable contar con pruebas rápidas de diagnóstico que permitan obtener resultados confiables para que el Médico Veterinario establezca las medidas preventivas adecuadas.

6. CONCLUSIONES.

La comparación de las tres técnicas serológicas es buena; dejando como las mejores la Serotipificación y la aglutinación con SSF; se complementan por ser una cualitativa y cuantitativa respectivamente.

Las dos mejores técnicas dan un complemento ya que entre las dos se da un diagnóstico confiable, rápido y saber en que etapa de la enfermedad se encuentra por el tipo y la cantidad de Ac presente en el suero.

Las ventajas de las dos técnicas son rápidas, confiables, sencillas y tienen un menor costo en comparación con otras técnicas de diagnóstico serológico.

Se descarta la técnica de 2-ME porque da un alto resultado de falsos negativos, además que el Mercaptoetanol es nocivo para la salud.

No se puede dejar solo una técnica de diagnóstico, ya que no puede ser detectada a tiempo, porque entre las dos técnicas se puede detectar Anticuerpos de tipo IgG e IgM.

El tipo de respuesta inmunología que presentan los cerdos es específica para la etapa de la enfermedad en que se encuentran de acuerdo al tipo de inmunoglobulinas que se presentan en el suero.

La frecuencia de Salmonelosis en el ganado porcino es elevada y con un alto índice de cerdos asintomáticos, además de ser el foco de infección más importante por no ser detectados a tiempo.

Los cerdos infectados con *Salmonella choleraesuis* pueden estar infectados con otro serotipo de *Salmonella* o alguna enfermedad del tracto respiratorio.

7. REFERENCIAS

- ◆ Baum, D.H; Harris, D.L. Roof, M.B; Nielsen, B. (1998). Use of SC-54 for the reduction de *Salmonella* in swine. Proceeding of the 15th IPVS. Congress, Birmingham, England, pp:54.
- ◆ Barnes. D. M y Sorensen, D.K. (1979). En Diseases of swine. Editor. H. Dumne. 4^a Ed. Iowa St. Univ. Press pp:554-563.
- ◆ Bernard D.D. (1983). Tratado de Microbiología. "Con inclusión de inmunología y genética molecular. 2^a Ed. Editorial Barcelona, pp: 797-801.
- ◆ Blaha, Th (1998). The international pork market and the control of zoonotic *Salmonella* in the pork chain. Proceeing of the 15th IPVS congress, Birmingham, England, pp:66
- ◆ Borrego, JJ; Castro, D; Jiménez, N. M; Luque, A. (1992). Comparison of epidemiological markers of *Salmonella* Strains isolated from different 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.
- ◆ Calva Edmundo. (2002) *Salmonella typhi* y la fiebre tifoidea: dela biología molecular a la salud pública. Instituto de Bacteriología, UNAM.
- ◆ Cano, J.P. MV. (2001) Diagnóstico y Control de Salmonelosis Porcina. Facultad de Ciencias Veterinarias, UCU-Maracay Edo. Aragua Venezuela.
- ◆ Capel, P.J.A, Gerlag. P.G.G., Hagemann. J.F.H.M, and Koene . R.A.P . The effect of 2- Mercaptoetanol on IgM and IgG antibody activity. Journal of Immunological Methods, 36(1980) 77-80
- ◆ 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.

- ♦ Carvajal. A.M.L; Pozo. J, Vidal .A y Rubio. P; (2000). Situación Actual de la Patología digestiva en cerdos en España. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

- ♦ Castillo. C. Juana. (2002) Preparación de un Antígeno de *Salmonella choleraesuis* para el Diagnóstico de Salmonelosis en cerdos. Tesis de Licenciatura UNAM-FES-Cuautitlan.

- ♦ Charles M. Scanlan (1991). Introducción a la Bacteriología Veterinaria. Ed. Acribia. Zaragoza España. pp: 97-102, 415-418.

- ♦ Damman, D. J; Bahnsen, 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 de cepas con perfiles de multiresistencia a los agentes antimicrobianos. Anaporc, 195:5'16

- ♦ Díaz Rayo Concepción (1987). Salmonelosis, Síntesis Porcina. Departamento de producción animal. Cerdos, F.MV.Z.-UNAM. pp: 286-287

- ♦ Dougan, G; Maskell, D; Pickard, D; y Hormacche, C. (1987). Isolation of stable o aroT mutants of *Salmonella typhi* Ty2: properties and preliminary characterization in mice. Mol. Gen .Genetic: 207 pp:402-405

- ♦ Elikaberri.(2003) Information bulletin Number 14. Week 28.

- ♦ Elmer W. Koneman, M.D; (1997) Diagnóstico Microbiológico. Texto y Atlas. 5° Ed. Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires Argentina. pp: 202-206.

- ♦ 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

- ♦ Euzaby J.P (1999); Revised *Salmonella* nomenclature: International Journal of Systematic Bacteriology. 49, 927-930

- ♦ Fedorka, C. P. J.; S. C. Whipp, and K. Larger. (1994). Transmission of *Salmonella typhimurium* to swins. *Veterinary Microbioly* 41 pp:333-344.

- ♦ Gerhardt, P, Murray, R.G.E. Et al., (1981) *Manual of Methods for General Bacteriology*. American Society for Microbiology. Washington; pp: 630-636.

- ♦ Heijden, H.J.F; Boleij, P.H.M; Loeffen, W.L.A; Bongrers, 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

- ♦ Hirsh. D.C (1994). *Tratado de Microbiología Veterinaria*. Editorial Acribia. Zaragoza España. pp: 105-109, 119-124.

- ♦ *International Journal of Systematic Bacteriology* (1997) 49,927-930

- ♦ Jawetz E, MD, PHD. (1996) *Microbiología Médica*. Editorial el Manual Moderno 15^a edición. México D.F, pp:249-263.

- ♦ Juárez LM. (2002) Obtención de un antígeno de *Pasterella multocida* de tipo "A" de conejo. Tesis. Universidad Nacinal Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuauttitlan., pp:26-30

- ♦ 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

- ♦ Linton, A. H, T.W. Heard, J.J AND pollard p. (1970). Computerbased analysis epidemiological data crising from Salmonellosis in pig. *Veterinary Microbioly* 41 pp:523-532.

- ♦ Magarici. M. (2000) *Salmonelosis*. Hospital Clínica Caracas Venezuela.

- ♦ Mc. Donald, V.P and. Smith H.G. (1978): *J. Hyg. Camb.* 56:271

- ♦ Merchant, I.A. *Bacteriología y Virología Veterinaria* 3^o Ed. 2^a. Reimpresión .Editorial Acribia. Zaragoza España. 1980

- ♦ Mittal, K.R., Higgins, R.; Lariviere, S., Leblnack, A. (1984). A 2- Mercaptoethanol tube agglutination test for the diagnosis of *Haemophilus pleuroneumoniae* infection in pig Am . J . Vet Res. 45: 415-719.

- ♦ Morilla. G. A (1994). Los seroperfiles en la Clínica Porcina, Acontecer Porcino, VII-9, pp:65-74.

- ♦ Moselio Schaechter. Ph.D. (1994) Microbiología. Mecanismos de las Enfermedades Infecciosas. 2ª Ed. Editorial. Medica Panamericana. Buenos Aires Argentina .

- ♦ Nielsen, B., Sprensen, L.L., Mogelmose, V; Dahl, J., and Wingstrand, A. (1998). Eradication of multi-resistant *Salmonella typhimurium* DT104 infections in Danish Swine Herds. Proceeding of the 15th IPVS Congress, Birmingham England, 5-9Jul. pp:80

- ♦ Otto. H. Siegmund (1981). El Manual Merck de Veterinaria. 2ª edición en español. MERCK, RAHWAY, USA, pp:245-249

- ♦ Pijoan, A. C; Ramírez, N. R. (1982) Diagnostico de las enfermedades del cerdo. Editores Pijoan Anguade Carlos y Ramiro Ramírez Necochea. Primera edición, pp:491-493

- ♦ Porta Ramón. (1999) Problemática actual de *Salmonella enteritidis*. Articulo publicado Mundo Ganadero N° 112.

- ♦ Prescott. Lansing M. Microbiología. 4 Ed. Et. Mc. Graw-Hill. Interamericana. 1999. Madrid España. Capitulo 32.

- ♦ Programas sobre el ambiente 229 (2000). Medidas de Prevención en relación a *Salmonella enteritidis*. Republica de Chile. División Salud Ambiental.

- ♦ Rojas- Espinosa Oscar. Inmunología (de memoria). 2º Ed. Editorial Medica Panamericana. México D.F. 2001 pp: 157-163

- ♦ Royer y Stanier. (1986) Microbiología 4º Ed. Ediciones REPLA; México D.F pp: 307-314, 778-779.

- ♦ Santiago C. Carlos A. (2002) Pontificia Universidad Católica de Chile. Programa de Doctorado en Ciencias. Mención Genética Molecular y Microbiología.

- ♦ Saravia M.D. Jaime. (2000) Sección de enfermedades Infecciosas. Hospital San Juan de Dios. Manual de Urgencias en Medicina Interna. Asociación colombiana de Medicina Interna. Ediciones Acta Medica Colombiana.

- ♦ Smits .H.L. (Dr) Kit Biomedical Research has developed simple distick and flow assay for the detecton of Brucella- specific IgM and IgG antibodies in human serum samples.

- ♦ Sojka, W.J. (1979). En Memorias del 1° Curso Latinoamericano de Enfermedades Gastrointestinales del Cerdo INIP-ALVEC-ENEP-C (México)

- ♦ Taylor, DJ (1979); Pigs Diseases. 6th edition, published by the author Lennoxtown, Glasgow, pp:61-63

- ♦ Thomas. M, PhD. (2002). ¿Como funciona la inmunización? College of Veterinary Medicine. University of Minnesota.

- ♦ Thomas, P. (1977): pigs Diseases Veterinary. Bull 47, pp:731.

- ♦ Torres, A.O. (1995). Estudio Microbiológico de *Actinobacillus pleuroneumoniae* y serológico con pleurotest serotipos 1,2,3,5,7 y9 con muestras obtenidas del rastro. Tesis de Licenciatura. FES-Cuautitlan.

- ♦ Velillá, A, Dr. Terzolo H. & Dr. Feingold S. (2004). Avances en el Diagnóstico molecular de *Salmonella* PCR aplicada a la Avicultura y a la Microbiología de los alimentos.

- ♦ 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

- ♦ Wilcok, B.P. and K. Scharwartz (1992) Salmonellosis Diseases of Swine 7th. Editorial Iowa Satte 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

♦ Wolfgang. K. Joklink, Zinsser (1993). Microbiología .18° Ed. Et. Medica Panamericana. Buenos Aires Argentina. pp: 27, 237, 689, 706, 712-717.

♦ W.Scöll, Ilka Itahn. Et al (1994) Utilización de vacunas contra Salmonelosis de animales domésticos en el marco de la concepción de lucha y saneamiento, Medicamentum, pp:5-11