



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
DE LA PLATA

*UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA*  
*FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS*

Tesis de Doctorado

*"Salmonella* en cerdos: serovariedades y aspectos de la  
resistencia antimicrobiana relacionados con la Salud  
Pública en cepas aisladas en granjas y en animales  
faenados"

Mariela Paula Ibar

2017



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar al título de  
“DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS”.**

***"Salmonella en cerdos: serovariedades y aspectos de la resistencia antimicrobiana  
relacionados con la Salud Pública en cepas aisladas en granjas y en animales  
faenados"***

**Autor:** M.V. Ibar, Mariela Paula.

**Director:** Dra. Giacoboni, Gabriela Isabel.

**Codirector:** Dra. Pichel, Mariana.

**Lugares de trabajo:**

1. Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP.
2. Servicio de Enterobacterias. INEI-ANLIS. Instituto “Dr. Carlos G. Malbrán”.

**Miembros del jurado:**

Dra. Gentilini, Elida.

Dra. Mestorino, Nora.

Dra. Schettino, Adriana María.

## DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a:

A mis dos hermosas hijas Anita y Lupe, la luz de mis ojos

A mi amado esposo Damián, por su apoyo incondicional

A mi madre Mabel (q.d.p.), que estaría muy orgullosa

A mi padre Oscar y su esposa Estela por su fe en mí

A mis hermanos y a toda mi querida familia

Y a Dios que guía mis pasos...

## AGRADECIMIENTOS

En principio quiero agradecer a la Agencia Nacional de Ciencia y Tecnología (ANCyT) y a la Universidad de La Plata (UNLP) por otorgarme las becas para realizar el Doctorado. Por otra parte, quiero agradecer a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP por permitirme realizar la Carrera de Doctorado en Ciencias Veterinarias, al Servicio del Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas (LADIB) y a su Directora Dra. Gabriela Giacoboni por brindarme su apoyo y recursos necesarios para realizar este trabajo, también quiero agradecer especialmente al Director del proyecto de investigación del PICT, Dr. Carlos Perfumo, del cual surgió la beca de ANCyT, por su apoyo y confianza en mí a lo largo de todo este trabajo. Y a en particular les agradezco a los Doctores Pablo Piñeyro y Javier Cappuccio por el diseño del Estudio Epidemiológico Transversal en granjas y frigoríficos y la recolección de las muestras para este estudio.

A todos los docentes y no docentes que me ayudaron y capacitaron para trabajar en el LADIB, en principio a mi Directora Dra. Gabriela Giacoboni, por brindarme su apoyo, transmitirme sus conocimientos y abrirme caminos en las diferentes áreas que abarcó este estudio. También quiero agradecer al Profesor adjunto Dr. Germán B. Vigo (q.d.p.) por sus enseñanzas en todo lo referido a *Salmonella* y por su colaboración en este trabajo, a la Profesora adjunta Bact. Florencia Pantozzi por capacitarme en la determinación de la CIM y por su apoyo para terminar la tesis, a la Profesora adjunta Dra. Fabiana Moredo por sus enseñanzas y ejemplo de las BPL, al personal técnico, Sres. Fabio Nievas y Walter Nievas por su apoyo técnico en este trabajo y los mates en el descanso; y a la Srta. Iris Olmedo, por su apoyo y consejos.

Por otro lado, agradezco al Instituto "Carlos G. Malbrán" por abrirme sus puertas para realizar la serotipificación y el PFGE, principalmente a mi co-Directora Dra. Mariana Pichel por su amabilidad, su apoyo en todo lo referido a PFGE y sus recomendaciones. También estoy agradecida a la Dra. María Ines Caffer, Jefa del Servicio de Enterobacterias, por su amabilidad y capacitación en la serotipificación. A todos los integrantes del Servicio de Enterobacterias del Instituto Malbrán que me brindaron su ayuda, en especial a la Biotecnóloga Mirian Moroni por su amabilidad y ayuda con la técnica de PFGE y la BDN.

Y sobre todo gracias a toda mi familia y amigos por su apoyo, estimularme para terminar la tesis y acompañarme en los momentos difíciles.

---

**CITAS BIBLIOGRÁFICAS DE PUBLICACIONES PARCIALES  
DEL TRABAJO DE TESIS**

1. Ibar M P, Vigo G, Piñeyro P, Caffer MI, Quiroga P, Perfumo P, Centrón D, Giacoboni G. Serovariedades de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* en porcinos de faena y su resistencia a los antimicrobianos. Rev Argent Microbiol. 2009; 41:156-62.
  
2. Ibar M, Vigo G, Piñeyro P, Perfumo CJ, Caffer M, Giacoboni G. Multiresistencia antimicrobiana de *Salmonella* Heidelberg aislada en cerdos de faena. III Congreso Latinoamericano de Zoonosis. VI Congreso Argentino de Zoonosis. Universidad pontificia Católica Argentina (UCA). Bs As. Argentina. 2008. B 081.
  
3. Ibar M, Vigo G, Piñeyro P, Capuccio J, Perfumo C, Giacoboni G. Antimicrobial Resistance of *Salmonella* spp. isolated from pig farms and abattoirs in Buenos Aires Province, Argentina. Proceedings of the 20 th International Pig Veterinary Society Congress (IPVS).International Convention Centre, Durban, Kwazulu-Natal, Sudafrica. 2008. p. 327.
  
4. Ibar M, Giacoboni G, Quiroga MP, Vigo G, Caffer MI, Perfumo C, Centrón D, Pichel M. Relación genética entre aislamientos de *Salmonella* Heidelberg multirresistentes aislados de cerdos faenados. XII Congreso Argentino de Microbiología. VI Congreso de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínica. SADEBAC. I Congreso de Microbiología Agrícola y Ambiental.- DIMAyA. Palais Rouge. CABA. Argentina. 2010. P422 - 27089

## INDICE

<b>PORTADA.....</b>	<b>1</b>
<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>3</b>
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>4</b>
<b>CITAS BIBLIOGRÁFICAS DE PUBLICACIONES PARCIALES DEL TRABAJO DE TESIS.....</b>	<b>6</b>
<b>INDICE.....</b>	<b>7</b>
<b>INDICE DE TABLAS .....</b>	<b>11</b>
<b>INDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>12</b>
<b>ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....</b>	<b>15</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>21</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>23</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>25</b>
<b>1.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....</b>	<b>25</b>
<b>1.2. EPIDEMIOLOGÍA.....</b>	<b>26</b>
<b>1.3. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y CULTURALES.....</b>	<b>30</b>
<b>1.4. FACTORES DE VIRULENCIA.....</b>	<b>31</b>
<b>1.4.1. Mecanismos de adherencia.....</b>	<b>33</b>
<b>1.4.2. Toxinas.....</b>	<b>34</b>
<b>1.4.3. Islas de patogenicidad.....</b>	<b>34</b>
<b>1.5. PATOGÉNESIS.....</b>	<b>37</b>
<b>1.6. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE <i>SALMONELLA</i> SPP.....</b>	<b>39</b>
<b>1.6.1. Método bacteriológico.....</b>	<b>39</b>
<b>1.6.1.1. Serotipificación.....</b>	<b>39</b>

1.6.2. Diagnóstico serológico por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA).....	40
1.6.3. Método de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	42
1.7. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE RESISTENCIAANTIMICROBIANA (RA).....	43
1.7.1. Método de difusión de disco en gel de agar.....	43
1.7.2. Método de dilución en agar.....	43
1.8. CARACTERIZACIÓN Y SUBTIPIFICACIÓN MOLECULAR DE AISLAMIENTOS DE <i>SALMONELLA</i> SPP.....	44
1.8.1. Electroforesis en campo pulsado (PFGE).....	45
1.9. SALMONELOSIS EN HUMANOS.....	49
1.10. EPIDEMIOLOGIA DE LA SALMONELOSIS EN CERDOS.....	51
1.11. IMPORTANCIA DE LA SALMONELOSIS A NIVEL DE LA SALUD PÚBLICA.....	54
1.11.1. Salmonelosis por consumo de productos o subproductos de origen porcino.....	55
1.11.2. Programas de control de la salmonelosis a nivel mundial.....	56
1.11.3. Vigilancia epidemiológica de la salmonelosis a nivel molecular en el mundo.....	57
1.11.4. Antecedentes de casos de salmonelosis por consumo de productos o subproductos de origen porcino en Argentina.....	59
1.11.5. Emergencia de la resistencia antimicrobiana de <i>Salmonella</i> .....	60
1.11.6. <i>Salmonella</i> en cerdos a nivel internacional.....	61
1.12. <i>SALMONELLA</i> SPP. EN CERDOS EN ARGENTINA.....	64
1.13. OBJETIVO GENERAL.....	66

1.13.1. Objetivos específicos.....	66
1.14. HIPÓTESIS MÁS RELEVANTES.....	67
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	68
2.1. DISEÑO DEL ESTUDIO Y ORIGEN DE LAS MUESTRAS.....	68
2.2. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE LOS AISLAMIENTOS DE <i>SALMONELLA</i> SPP.....	72
2.3. ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS.....	73
2.4. SEROTIPIFICACIÓN.....	74
2.5. ELECTROFORESIS EN CAMPO PULSADO (PFGE).....	75
2.5.1. PFGE: Captura de imágenes y análisis de resultados.....	75
2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	76
3. RESULTADOS.....	77
3.1. PREVALENCIA Y SEROVARIEDADES DE <i>SALMONELLA</i> SPP. EN GRANJAS.....	77
3.2. PREVALENCIA Y SEROVARIEDADES DE <i>SALMONELLA</i> SPP. EN FRIGORÍFICOS.....	78
3.3. SENSIBILIDAD Y PERFILES DE RESISTENCIA DE <i>SALMONELLA</i> EN GRANJAS Y FRIGORÍFICOS.....	81
3.3.1. Sensibilidad y resistencia antimicrobiana de <i>Salmonella</i> en granjas.....	81
3.3.2. Sensibilidad y resistencia antimicrobiana de <i>Salmonella</i> en frigoríficos.....	81
3.3.3. Análisis de la sensibilidad de <i>Salmonella</i> spp. por antimicrobiano en granjas y frigoríficos.....	83

3.4. CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA DE LOS AISLAMIENTOS DE <i>SALMONELLA</i> DE GRANJAS Y FRIGORÍFICOS.....	84
3.4.1. PFGE- <i>XbaI</i> .....	84
3.4.2. PFGE- <i>BlnI</i> .....	99
3.5. DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN GENÉTICA ENTRE LOS AISLAMIENTOS DE ORIGEN PORCINO Y LOS AISLAMIENTOS HUMANOS CIRCULANTES EN EL PAÍS.....	106
4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	117
4.1. PREVALENCIA DE <i>SALMONELLA</i> EN CERDOS EN GRANJAS Y FRIGORÍFICOS.....	117
4.2. SEROVARIEDADES DE <i>SALMONELLA</i> SPP. EN GRANJAS Y FRIGORÍFICOS.....	123
4.3. SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE <i>SALMONELLA</i> EN GRANJAS Y FRIGORÍFICOS.....	128
4.4. RELACIÓN GENÉTICA ENTRE LOS PERFILES GENÉTICOS DE LAS CEPAS DE <i>SALMONELLA</i> DE GRANJAS Y FRIGORÍFICOS Y LOS SUBTIPOS GENÉTICOS DE <i>SALMONELLA</i> DE ORIGEN HUMANO Y DE OTROS ORÍGENES HALLADOS EN LA BASE DE DATOS NACIONAL (BDN).....	137
5. BIBLIOGRAFÍA.....	156
6. ANEXOS.....	188
6.1. ANEXO 1.....	188
6.2. ANEXO 2.....	190
6.3. ANEXO 3.....	192

## INDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Características bioquímicas diferenciales de las subespecies de *Salmonella*.

**Tabla 2.** Tipos de fimbrias en diferentes serovariedades de *Salmonella*.

**Tabla 3.** Funciones de las Islas de patogenicidad en *Salmonella*.

**Tabla 4.** Criterios para la interpretación de patrones de PFGE según Tenover *et al.*

**Tabla 5.** Evolución del consumo de carne porcina en Argentina.

**Tabla 6.** Distribución y procedencia de las granjas por frigorífico y fecha de muestreo.

**Tabla 7.** Total de muestras recolectadas en frigoríficos.

**Tabla 8.** Antimicrobianos utilizados en las categorías de destete, crecimiento y engorde.

**Tabla 9.** Número de aislamientos obtenidos por etapa de desarrollo en granjas.

**Tabla 10.** Distribución y número de las serovariedades de *Salmonella* aisladas en frigoríficos, según tipo de muestra y granja de origen.

**Tabla 11.** CIM<sub>50</sub> y CIM<sub>90</sub> de las 101 cepas de *Salmonella* aisladas en granjas y frigoríficos.

---

**INDICE DE FIGURAS**

- Figura 1.** Colonias de *Salmonella* spp. en medio selectivo de Agar Entérico Hektoen.
- Figura 2.** Esquema de la patogenia de la infección por *Salmonella* spp.
- Figura 3.** Fotomicrografía electrónica. Demostración de invasión de células epiteliales ileales de cerdo por *S. Typhimurium*.
- Figura 4.** Localización geográfica de las granjas porcinas del Estudio Epidemiológico Transversal.
- Figura 5.** Porcentaje de serovariedades de *Salmonella* aisladas en frigoríficos.
- Figura 6.** Número de cepas resistentes y patrones de resistencia antimicrobiana de *S. Heidelberg* (A), *S. Typhimurium* (C, D, F y H), *S. Orion* (E) y *S. Derby* (B y G) aisladas en frigoríficos.
- Figura 7.** Dendograma con los 30 perfiles genéticos obtenidos por PFGE-*XbaI* de las cepas de *Salmonella* aisladas de granjas y frigoríficos.
- Figura 8.** Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de *S. Schwarzengrund*.
- Figura 9.** Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de *S. Heidelberg*.
- Figura 10.** Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de *S. Newport* y *S. subsp. I* (6,8:e,h:-).
- Figura 11.** Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de *S. Bredeney*.
- Figura 12.** Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de *S. Agona*.
- Figura 13.** Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de *S. Derby*.
- Figura 14.** Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de *S. Infantis*.
- Figura 15.** Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de las 11 cepas de *S. Typhimurium*.
- Figura 16.** Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de *S. Orion*.

- Figura 17.** Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de *S. Rissen*.
- Figura 18.** Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de las cepas de *S. Seftenberg*.
- Figura 19.** Perfil genético de PFGE-*XbaI* de *S. Anatum*.
- Figura 20.** Perfil genético de PFGE-*XbaI* de la cepa de *S. Tennessee*.
- Figura 21.** Perfil genético de PFGE-*XbaI* de la cepa de *S. Adelaide*.
- Figura 22.** Dendograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de 2 aislamientos seleccionados de *S. Agona*.
- Figura 23.** Dendograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de 2 aislamientos seleccionados de *S. Bredeney*.
- Figura 24.** Dendograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de 2 aislamientos seleccionados de *S. Derby*.
- Figura 25.** Dendograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de 3 aislamientos seleccionados de *S. Heidelberg*.
- Figura 26.** Dendograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de 2 aislamientos seleccionados de *S. Infantis*.
- Figura 27.** Dendograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de la selección de 2 aislamientos de *S. Newport* y 2 de *S. subsp. I (6,8:e,h:-)*.
- Figura 28.** Dendograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de la selección de 5 aislamientos de *S. Schwarzengrund*.
- Figura 29.** Dendograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de la selección de 2 aislamientos de *S. Typhimurium*.
- Figura 30.** Dendograma de PFGE-*XbaI* indicando la relación genética entre *S. Agona* de origen porcino 1308/08, 1626/08, 1939/08, 1307/08 y 1627/08 (enmarcadas en un rectángulo) y 9 cepas de origen humano.

**Figura 31.** Dendograma de PFGE-*XbaI* indicando la relación genética entre *S. Anatum* 1899/08 (enmarcada en un rectángulo) y 8 aislamientos de origen humano.

**Figura 32.** Dendograma de PFGE-*XbaI* indicando la relación genética entre *S. Derby* 1191/08, 1012/08, 1128/08, 1129/08, 813/08, 810/08 y 812/08 (\*) y 11 cepas de origen humano.

**Figura 33.** Dendograma de PFGE-*XbaI* indicando la relación genética entre 3 cepas de *S. Newport* (\*), 12 cepas de *S. subsp. I* (6,8:e,h:-) (\*) y 68 cepas de *S. Newport* de origen humano.

**Figura 34.** Dendograma de PFGE-*XbaI* indicando la relación genética entre *S. Typhimurium* 808/08 (\*) y 20 aislamientos de origen humano.

**Figura 35.** Dendograma de PFGE-*XbaI* indicando la relación genética entre *S. Typhimurium* 1628/08 (\*) y un aislamiento de origen humano.

**Figura 36.** Dendograma de PFGE-*XbaI* indicando la relación genética entre *S. Adelaide* 1015/08 (enmarcada en un rectángulo) y un aislamiento de origen humano.

**Figura 37.** Dendograma de PFGE-*XbaI* indicando la relación genética entre 4 cepas de *S. Infantis* 1631/08, 1665/08, 1902/08 y 1904/08 (\*) y 24 aislamientos de origen humano.

**Figura 38.** Dendograma de PFGE-*XbaI* indicando la relación genética entre 26 cepas de *S. Schwarzengrund* (\*) y 5 aislamientos de origen humano.

**Figura 39.** Dendograma de PFGE-*XbaI* indicando la relación genética entre 2 cepas de *S. Seftenberg* (\*) y un aislamiento de origen humano.

**Figura 40.** Distribución beta a priori y a posteriori en granjas.

**Figura 41.** Distribución beta a priori y a posteriori de granjas positivas.

**Figura 42.** Distribución beta a priori y a posteriori en frigoríficos.

---

## ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

A: aislamiento

ADN: ácido desoxirribonucleico

AKN: amikacina

AL: América Latina

AMC: amoxicilina-clavulánico

AMP: ampicilina

AMX: amoxicilina

ANLIS: Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud

AOAC: Association of Analytical Communities

ATM: antimicrobianos

AVL: Aivlosin

BAM: Bacteriological Analytical Manual

BDN: Base de Datos Nacional

CABA: Ciudad Autónoma de la Ciudad de Buenos Aires

CAR: carbadox

CAZ: ceftazidima

CC: contenido cecal

CDC: Centers for Disease Control and prevention

CEF: cefalotina

CIM: concentración inhibitoria mínima

CIP: ciprofloxacina

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMP: cloranfenicol

Coef.: coeficiente

COL: colistina

CTX: cefotaxima

d: diferentes reacciones

Dr.: Doctor

DS: desvío standard

E.: *Escherichia*

EEUU: Estados Unidos

EFSA: European Food Safety Authority

Ej.: ejemplo

ELISA: Inmunoadsorción ligado a enzimas

ENR: enrofloxacina

EPIDAT: Análisis Epidemiológico de Datos Tabulados

ESP: espectinomicina

ETA: Enfermedades Transmitidas por Alimentos

*et al.*: y otros

FDA: Food and Drug Administration

FFC: florfenicol

F: frigorífico

FoodNet: Foodborne Disease Active Surveillance Network

FOS: fosfomicina

FOX: cefoxitina

FQ: fluoroquinolonas

G-C: guanina-citocina

GEN: gentamicina

G.: granja

gr: gramos

H: flagelar

hs: horas

Ig A: inmunoglobulina A

Ig G: inmunoglobulina G

Ig M: inmunoglobulina M

I: intermedia

INEI: Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas

ISO: International Organization Standardization

KAN: kanamicina

Kb: kilobases

K: capsular

KCN: cianuro de potasio

Kda: kilodalton

kg: kilogramo

LIN: lincomicina

LN: nódulo linfático

LPF: fimbria polar larga

LPS: lipopolisacáridos

M3: posdestete (35 días)

M4: final del destete (65 días)

M6: crecimiento (128 días)

M8: engorde (165 días)

MDR: MultiDrug Resistance o multirresistentes

MF: materia fecal

mg: miligramo

Mg<sup>2+</sup>: magnesio

ml: mililitro

MLST: Multilocus Sequence Typing

mm: milímetros

M.: muestreo

NAHMS: National Animal Health Monitoring System

NAL: ácido nalidíxico

N/A: No Agrupa

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

NEO: neomicina

NIT: nitrofurantoína

NJ: Neighbourgh Joining Method

Nº: número

NOR: norfloxacin

OMS: Organización Mundial de la Salud

ONCCA: Oficina Nacional de Control Comercial Agropecuario

ONPG: ortho-nitrophenyl- $\beta$ -galactosidasa

OPS: Organización Panamericana de la Salud

O: somático

OTUs: unidades taxonómicas operacionales

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

PCV-2: circovirus porcino tipo 2

Pef: fimbria codificada en plásmido

PEN: penicilina

PFGE: Pulse Field Gel Electrophoresis o electroforesis por campo pulsado

POL-B: polimixina-B

RA: Resistencia Antimicrobiana

Ref.: referencias

R: resistente

SAGPyA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos

SENASA: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria

S: estreptomina

SPI: islas de patogenicidad

S.: *Salmonella*

S: sensible

SSTI: Sistema de secreción tipo 1

SSTIII: Sistema de secreción tipo 3

Stn: toxina de *Salmonella* Typhimurium

Subsp.: subespecie

SU: sulfonamidas

TET: tetraciclina

TIL: tilosina

TIO: ceftiofur

TMS: trimetoprima-sulfametoxazol

TRIS-EDTA: hidroximetil-ácido etilen diamino tetra acético

TRI: trimetoprima

UE: Unión Europea

U: unidades

UNLP: Universidad Nacional de La Plata

UPGMA: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean

USDA: United States Department of Agriculture

V: voltios

WHO: World Health Organization

%: porcentaje

+: positivo

-: negativo

x: por

°C: grados Celsius

$\mu\text{g}$ : microgramo

$\geq$ : mayor o igual

---

## RESUMEN

Título: *Salmonella* en cerdos: serovariedades y aspectos de la resistencia antimicrobiana relacionada con la Salud Pública en cepas aisladas en granjas y en animales faenados.

Palabras claves: *Salmonella*, cerdos, multirresistencia a los antimicrobianos, PFGE, Salud Pública.

Los objetivos de este estudio fueron determinar la prevalencia de *Salmonella* y sus serovariedades en 10 granjas y 4 frigoríficos de cerdos en las provincias de Buenos Aires y Santa Fe (Argentina), evaluar sus perfiles de resistencia antimicrobiana, determinar los perfiles genéticos circulantes en cerdos y relacionarlos con casos de salmonelosis humanos. La marcha bacteriológica se realizó según las normas FDA/BAM/AOAC y la serotipificación se realizó de acuerdo al esquema de Kauffmann-White, en el Instituto INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbran”. En granjas, a partir de un total de 200 muestras de materia fecal del piso se aislaron 8 (4%) cepas de *Salmonella* spp., se identificaron 4 serovariedades diferentes: *S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Tennessee* y *S. Seftenberg*. En frigoríficos, de un total de 386 muestras, se identificaron 93 (24%) cepas de *Salmonella* spp., 52 (56%) de contenido cecal y 41 (44%) de linfonódulo ileocecal; se identificaron 15 serovariedades diferentes. Las 6 más prevalentes fueron *S. Schwarzengrund*, *S. Heidelberg*, *S. subsp I (6,8:e,h:-)*, *S. Derby*, *S. Bredeney* y *S. Typhimurium*. Se probaron 15 antimicrobianos por el método de difusión y dilución en agar según las normas del CLSI: amikacina, gentamicina, ciprofloxacina, cefalotina, cefotaxima, enrofloxacin, fosfomicina, polimixina-B, tetraciclina, cloranfenicol, estreptomycin, trimetoprima-sulfametoxazole, ampicilina, nitrofurantoina y ácido nalidixico. En granjas y frigoríficos se destacó la resistencia a

tetraciclina (30%) y ampicilina (22%). En cerdos de faena hubo 25 (27%) cepas de *Salmonella* multirresistentes, *S. Heidelberg*, *S. Typhimurium*, *S. Derby* y *S. Orion*. Los mayores porcentajes de resistencia coinciden con los antimicrobianos más utilizados en granjas. Los resultados del PFGE-*XbaI* determinaron 30 perfiles diferentes. Sin embargo, no se estableció correlación entre resistencia antimicrobiana y perfil genético. Se encontró el mismo subtipo genético de *S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Newport*, *S. Bredeney*, *S. Infantis*, *S. Derby*, *S. Anatum* y *S. Adelaide*, circulando en cerdos y casos de salmonelosis en humanos.

---

**ABSTRACT**

Title: *Salmonella* in pigs: serovars and aspects of antimicrobial resistance related to Public Health in strains isolated on farms and in slaughtered animals.

Key words: *Salmonella*, pigs, antimicrobial multiresistance, PFGE, Public Health.

The objectives of this study were to determine the prevalence of *Salmonella* and its serovars in 10 pig farms and 4 slaughterhouses in the provinces of Buenos Aires and Santa Fe (Argentina), to evaluate their antimicrobial resistance profiles and to determine the circulating genetic profiles in pigs, relating them to cases of salmonellosis in humans. The bacteriological study was performed according to FDA/BAM/AOAC standard methods and *Salmonella* strains were serotyped according to the Kauffmann-White scheme at the Institute INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbran”. On farms, out of a total of 200 fecal samples of ground, 8 (4%) strains of *Salmonella* spp. were isolated, belonging to 4 different serovars: *S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Tennessee* and *S. Seftenberg*. In 386 samples taken at the pig slaughterhouses there were identified 93 (24%) strains of *Salmonella* spp, 52 strains (56%) in cecal contents and 41 strains (44%) in ileocecal lymph nodes; belonging to 15 different serovars. The six most prevalent were *S. Schwarzengrund*, *S. Heidelberg*, *S. subsp I (6.8:e,h:-)*, *S. Derby*, *S. Bredeney* and *S. Typhimurium*. Fifteen antimicrobials were tested by the method of diffusion and agar dilution according to CLSI standards: amikacin, gentamicin, ciprofloxacin, cephalotin, cefotaxime, enrofloxacin, fosfomicin, polimixin-B, tetracycline, chloramphenicol, streptomycin, trimethoprim-sulfamethoxazole, ampicillin, nitrofurantoin, and nalidixic acid. In farms and slaughterhouses resistance to tetracycline (30%) and ampicillin (22%) stands out. In slaughter pigs there were 25 (27%) multiresistant strains of *Salmonella*, *S. Heidelberg*, *S. Typhimurium*, *S. Derby*

and *S. Orion*. The highest percentages of resistance match the most commonly used antimicrobials on farms. PFGE-*XbaI* results established 30 different profiles. However, no correlation between antimicrobial resistance and genetic profiling was established. The same genetic subtype of *S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Newport*, *S. Bredeney*, *S. Infantis*, *S. Derby*, *S. Anatum* and *S. Adelaide*, was found circulating in pigs as well as cases in of salmonellosis in humans.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

El género *Salmonella* pertenece a la tribu *Salmonelleae*, de la familia *Enterobacteriaceae*. Estudios de ADN mediante técnicas de hibridación mostraron que el género *Salmonella* está constituido por dos especies: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*.

La especie *enterica*, mediante pruebas bioquímicas, se subdivide en seis subespecies: *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *hountenae* (IV) e *indica* (VI). A su vez las seis subespecies de *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* se clasifican en más de 2.400 variedades serológicas o serovariedades, que están definidas en función de diferentes asociaciones de factores antigénicos somáticos O y flagelares H, según el Esquema Internacional para la Serotipificación de *Salmonella* publicado por el "Centro Colaborador de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de Referencia e Investigación de *Salmonella*", del Instituto Pasteur de París (Grimont y Weill, 2007).

Otra particularidad a nivel taxonómico es que, como el resto de las bacterias el género, la especie y la subespecie se escriben con letra cursiva o itálica, el género con mayúscula y especies y subespecies (subsp.) con minúscula pero las serovariedades se escriben con letra romana y con mayúscula porque no tienen el nivel de especie en la taxonomía bacteriana, es decir que no están incluidas en la reglamentación del "Código Internacional de Nomenclatura Bacteriana" por ej., *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovariedad Typhimurium.

A fines prácticos se escribe sólo el género y la serovariedad por ej., *S. Typhimurium*. En el caso de *S. bongori* y las serovariedades de las demás subsp. de *S. enterica*, se denominan con el nombre de la subsp. y luego la fórmula antigénica específica por ej., *S. enterica* subsp. *hountenae* (50:b.-) (Caffer *et al.*, 2008).

La mayoría de las serovariedades (99,8%) de *Salmonella* aisladas del hombre y de los animales de sangre caliente pertenecen a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* y llevan un nombre por lo general relacionado con el lugar geográfico donde se aisló por primera vez. Las demás subsp. de *S. enterica* y *S. bongori*, de baja incidencia en patología humana y animal, se encuentran en animales de sangre fría y en el medio ambiente.

## 1.2 EPIDEMIOLOGÍA

*Salmonella* está ampliamente presente en animales domésticos y salvajes. Es prevalente en animales de consumo tales como aves, porcinos y vacunos, y también en mascotas, incluidos gatos, perros, pájaros y reptiles, entre ellos las tortugas.

*Salmonella*, es una bacteria omnipresente y resistente que puede sobrevivir varias semanas en un entorno seco, y varios meses en agua (WHO, 2013).

La salmonelosis ocurre universalmente en todas las especies animales (Blood y Radostits, 1992). *Salmonella* está ampliamente distribuida en la naturaleza, habita en el tracto intestinal de animales vertebrados e invertebrados y su excreción produce la contaminación de los alimentos, el agua y el medio ambiente (Turnbull, 1979).

*Salmonella* spp. no forma parte de la microbiota intestinal normal pero tanto el hombre como los animales pueden mantener por largo tiempo el estado de portador asintomático (Terzolo, 1998).

Algunas de las serovariedades de *Salmonella* están estrictamente adaptadas al hospedador, mientras que la mayoría tiene un amplio rango de hospedadores por ej., *S. Typhimurium*. Algunas serovariedades de *Salmonella* están localizadas en una región particular del mundo por ej., *S. Sendai* en el Lejano Oriente, *S. Berta* en Norte América, pero otras son ubicuas por ej., *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*.

*Salmonella enterica* subsp. *salamae*, subsp. *arizonae* y subsp. *diarizonae* son aisladas frecuentemente de contenido intestinal de animales de sangre fría y sólo raramente de humanos y animales de sangre caliente. *Salmonella enterica* subsp. *hountenae* y *S. bongori* son aisladas principalmente del medio ambiente y son raramente patógenas para los humanos (Garrity *et al.*, 2005).

*Salmonella* spp. se puede clasificar desde el punto de vista epidemiológico (Caffer *et al.*, 2008) en tres grupos:

- Grupo 1: Está integrado por las serovariedades que no tienen afinidad por ningún hospedador en particular. Son capaces de infectar tanto al hombre como a los animales. En este grupo se encuentran la mayoría de las serovariedades que causan salmonelosis por ej., *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*.
- Grupo 2: Abarca las serovariedades que afectan únicamente al hombre: *S. Typhi*, *S. Paratyphi A* y *S. Paratyphi C*. Se transmiten en forma directa o indirecta del enfermo y/o portador sano a otra persona.

- Grupo 3: Se incluyen en este grupo las serovariedades que se hallan adaptadas a un hospedador animal exclusivamente por ej., *S. Cholerasuis* (cerdos), *S. Abortusovis* (ovinos), *S. Abortusequi* (equinos), *S. Gallinarum* (aves) y *S. Dublin* (bovinos).

Las serovariedades de *Salmonella* adaptadas a los humanos por ej., *S. Typhi*, *S. Paratyphi A* y *S. Sendai*, en general causan enfermedades severas con septicemia por ej., fiebre tifoidea, pero no son naturalmente patógenas para otras especies animales. En este caso la salmonelosis es transmitida de persona a persona, sin hospedador intermediario, a través de la contaminación fecal del agua y los alimentos.

En el caso de las serovariedades que están adaptadas a una especie animal, causan infecciones específicas por ej., *S. Typhisuis* causa linfadenitis en cerdos, *S. Abortusovis* causa abortos en ovejas, *S. Gallinarum* causa el tifus aviar en gallinas.

Las serovariedades ubicuas, como *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*, entre otras, que están adaptadas tanto al hombre como a los animales, producen principalmente enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). La transmisión a través de alimentos de origen animal puede ser por huevos, carne y productos lácteos provenientes de animales infectados. También se han notificado infecciones adquiridas a través del consumo de agua, frutas y hortalizas contaminadas; o por el contacto directo o indirecto con mascotas infectadas como perros, tortugas, serpientes y pájaros (Garrity *et al.*, 2005).

En los humanos, luego de la recuperación de un caso clínico de salmonelosis, algunos pacientes permanecen como portadores asintomáticos de *Salmonella* por semanas,

meses o años, y continúan eliminando al microorganismo por las heces. Así, los portadores asintomáticos contribuyen a la diseminación de salmonelosis, especialmente si el diagnóstico del estado de portador no es controlado por cultivos de materia fecal (MF) periódicos.

Los animales cuando son infectados por *Salmonella* pueden convertirse en casos clínicos o en portadores asintomáticos. Luego de la infección por *Salmonella* spp., las bacterias pueden quedar acantonadas en los nódulos linfáticos mesentéricos. En este caso hablamos de animales o humanos portadores asintomáticos de *Salmonella* spp., los cuales pueden ser portadores activos si las eliminan a través de la MF o portadores latentes si no las eliminan en ese momento. Las causas de la eliminación de *Salmonella* a través de la MF son diversas y dependen de diferentes factores, que pueden ser propios del animal o de factores ambientales. La importancia de los portadores latentes consiste en que pueden convertirse en portadores activos o, incluso en casos clínicos bajo situaciones de stress, por ej., durante el transporte (Blood y Radostits, 1992).

En el medio ambiente, *Salmonella* spp. resiste el frío y la desecación; sobrevive durante semanas en hielo, agua y tierra contaminados (Nicolet, 1986). Por ende, la epidemiología de *Salmonella* spp. es muy compleja debido a su distribución ubicua, su creciente número de serovariedades, su amplio rango de hospedadores y su compleja patogénesis.

### 1.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y CULTURALES

Los miembros del género *Salmonella* son bacilos rectos, Gram-negativos, usualmente móviles por flagelos peritricos, excepto *S. Gallinarum* o *S. Pullorum* que son inmóviles. Son anaerobios facultativos y no esporulados.

Las colonias generalmente miden 2-4 mm de diámetro, aunque inusualmente la serovariedad *S. Abortusovis* puede formar colonias de 1 mm de diámetro.

En el medio selectivo y diferencial Agar Entérico Hektoen las colonias de *Salmonella* se observan con centro negro y halo verde-azulado (Figura 1); pero para confirmarlo hay que realizar pruebas bioquímicas.



Figura 1. Colonias de *Salmonella* spp. en medio selectivo de Agar Entérico Hektoen.

Fuente: Ibar M., 2014.

Bioquímicamente reducen nitratos a nitritos. Producen gas a partir de D-glucosa, excepto *S. Typhi*. La mayoría de las serovariedades producen ácido sulfhídrico pero pocas de ellas no lo producen como por ej., la mayoría de las cepas de *S. Paratyphi A* y

algunas cepas de *S. Cholerasuis*. El citrato es utilizado generalmente por *Salmonella* spp. pero algunas serovariedades no lo utilizan por ej., *S. Typhi* y *S. Paratyphi A*. La mayoría de las serovariedades de *Salmonella* son positivas a la prueba de lisina descarboxilasa pero *S. Paratyphi A* es una excepción. Otras características bioquímicas del género, especies y subsp. se detallan en la Tabla 1 (Garrity *et al.*, 2005).

**Tabla 1. Características bioquímicas diferenciales de las subespecies de *Salmonella*.**

Especie	<i>S. enterica</i>	<i>S. bongori</i>					
Subespecie	I	II	IIIa	IIIb	IV	VI	V
Pruebas	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>Diarizonae</i>	<i>hountenae</i>	<i>indica</i>	
Dulcita	+	+	-	-	-	D	+
ONPG	-	-	+	+	-	D	+
Malonato	-	+	+	+	-	-	-
Gelatina	-	+	+	+	+	+	-
Sorbita	+	+	+	+	+	-	+
KCN	-	-	-	-	+	-	+
Tartrato	+	-	-	-	-	-	-
Mucato	+	+	+	- (70%)	-	+	+
Salicina	-	-	-	-	+	-	-
Lactosa	-	-	- (75%)	+(75%)	-	D	-
Hábitat	Animales de sangre caliente		Animales de sangre fría y medio ambiente				

Ref.: ONPG: ortho-nitrophenyl- $\beta$ -galactosidasa; KCN: cianuro de potasio; (+): positivo; (-): negativo; (d): diferentes reacciones; (%): porcentaje.

Fuente: Garrity *et al.*, 2005.

## 1.4 FACTORES DE VIRULENCIA

El potencial patogénico de *Salmonella* spp. está asociado a la presencia de factores de virulencia. Los factores de virulencia denotan productos bacterianos o estrategias, codificados por genes, que contribuyen a la virulencia o patogenicidad. Hay algunos

rasgos y productos bacterianos, tales como la capacidad de adherirse a células de la mucosa o para producir proteínas tóxicas, que tienen una relación clara y directa con el proceso de infección. Otros rasgos bacterianos, tales como la capacidad de obtener energía a partir de la fermentación de azúcar, se consideran generalmente funciones metabólicas en lugar de factores de virulencia, a pesar de que la capacidad de una bacteria para adquirir carbono y energía desde el cuerpo humano es claramente esencial para la infección (Salyers y Whitt, 1994).

Los factores de virulencia incluyen proteínas secretadas, como toxinas y enzimas, y estructuras de la superficie celular, como los polisacáridos capsulares, lipopolisacáridos (LPS) y proteínas de la membrana externa, que contribuyen directamente a los procesos de la enfermedad. Ahora, se hace evidente que muchos genes que codifican factores de virulencia, tales como los mecanismos de secreción, sideróforos, catalasas y reguladores, están involucrados en la patogénesis. Los productos de dichos genes permiten a un microorganismo colonizar el nicho de un huésped en el que el organismo prolifera y pueden provocar daño tisular o inflamación sistémica. Las bacterias patógenas albergan numerosos factores de virulencia. Mediante la expresión y combinaciones de diferentes genes que los codifican, son capaces de inducir diferentes enfermedades (Chen L *et al.*, 2005).

En *Salmonella* spp., los factores de virulencia son los LPS, la capacidad de adherirse e invadir células, la habilidad de replicarse intracelularmente, la producción y excreción de una toxina y las islas de patogenicidad (SPI). Se detallan a continuación las características de cada uno de estos factores de virulencia.

### 1.4.1 Mecanismos de adherencia

La supervivencia de un microorganismo en un nicho determinado depende, en principio, de su habilidad para adherirse, las adhesinas de la bacteria tienen una estructura que les permite reconocer moléculas presentes en las células del hospedador llamadas receptores, con una estereoquímica específica. Esta unión determina los hospedadores y el organotropismo de las bacterias; además, las adhesinas tienen la capacidad de activar a los linfocitos B y neutrófilos, lo que resulta en una variedad de respuestas biológicas incluyendo proliferación celular y secreción de citocinas. En las bacterias, se puede encontrar una amplia variedad de adhesinas, las cuales se dividen en dos grandes grupos: adhesinas fimbriales y afimbriales. En general, las adhesinas de bacterias Gram-negativas son: fimbrias, fibrillas, flagelos, LPS y cápsula. Es común el aislamiento de una bacteria que exprese múltiples tipos de fimbria, *Salmonella* expresa una amplia variedad de fimbrias con diferente especificidad de unión (Figuroa y Verdugo, 2005). Los tipos de fimbrias que se han encontrado en diferentes serovariedades de *Salmonella* se detallan en la Tabla 2.

**Tabla 2. Tipos de fimbrias en diferentes serovariedades de *Salmonella*.**

Fimbria	Serovariedad
Tipo 1 (Sef21)	Varios
Tipo 2	<i>S. Gallinarum</i> , <i>S. Pullorum</i>
Tipo 3	<i>S. Typhimurium</i>
SEF17	Varios
SEF14	Grupo D
SEF18	Todos
Pef adherencia a enterocitos	<i>S. Typhimurium</i>
LPF Adherencia a células M	<i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Gallinarum</i>

Ref.: Pef: fimbria codificada en plasmido. LPF: fimbria polar larga.

Fuente: Figuroa *et al.*, 2005.

### 1.4.2 Toxinas

Varios estudios han descripto actividad citotóxica y enterotóxica en *Salmonella*. La toxina más estudiada es la toxina de *Salmonella* Typhimurium (Stn). Es una proteína termolábil de 29 kda. Esta toxina se produce en bajos niveles, por lo cual su papel en la patogénesis de la enfermedad es cuestionado. Parte de su secuencia tiene similitud con la subunidad A de la toxina colérica y con la toxina termolábil de *E. coli*. Secuencias homólogas a Stn han sido encontradas en todas las serovariedades de *Salmonella* excepto en *S. bongori*.

### 1.4.3 Islas de patogenicidad

Las SPI están constituidas por un grupo de genes involucrados que codifican factores específicos de virulencia, su porcentaje de guanina-citocina (G-C) difiere del promedio del genoma bacteriano, se presentan repeticiones directas en sus extremos, portan genes que codifican factores de movilidad como integrasas, transposasas o secuencias de inserción (Figuroa y Verdugo, 2005).

Las SPI constituyen elementos fundamentales de la evolución de los microorganismos, dado que su incorporación puede, en un único evento, transformar un microorganismo normalmente benigno en uno patógeno (Blanc y Groisman, 1999).

Al menos 5 SPI han sido descriptas en *Salmonella* (Amavisit y Markham, 2003; Figuroa y Verdugo, 2005), sus funciones se describen en la Tabla 3.

**Tabla 3. Funciones de las Islas de patogenicidad en *Salmonella***

SPI	Tamaño (kb)	Función
SPI-1	40	Interacción inicial e invasión de células epiteliales intestinales. Apoptosis de macrófagos.
SPI-2	40	Proliferación intracelular. Infección sistémica.
SPI-3	17	Supervivencia dentro de macrófagos.
SPI-4	25	Supervivencia dentro de macrófagos.
SPI-5	7	Enteropatogénesis.

Ref.: SPI: isla de patogenicidad; kb: kilobase.

Fuente: Amavisit y Markham, 2003; Figueroa y Verdugo, 2005.

#### Isla de patogenicidad 1 (SPI-1)

La SPI-1 es un segmento de 35-40 kb que contiene 31 genes que pueden ser divididos en categorías que incluyen: genes, denominados *inv-spa*, que codifican el sistema de secreción tipo 3 (SSTIII) para la invasión de células del hospedero no fagocíticas, genes que codifican proteínas involucradas en la translocación de las moléculas efectoras dentro del citoplasma de la célula hospedero y genes que codifican las proteínas efectoras y sus chaperonas. Se encuentra presente en *S. bongori* y en todas las serovariedades de *S. enterica* (Figueroa y Verdugo, 2005).

#### Isla de patogenicidad 2 (SPI-2)

La SPI-2 también codifica para un SSTIII que se activa cuando la bacteria se encuentra intracelularmente dentro de una vacuola. Su tamaño es de 40 kb. Consta de 32 genes que regulan la supervivencia y replicación bacteriana en los compartimentos intracelulares de fagocitos y células epiteliales (Figueroa y Verdugo, 2005).

### Isla de patogenicidad 3 (SPI-3)

La SPI-3, es un segmento de 17 kb, también es requerida para la supervivencia intracelular en macrófagos, provee productos esenciales para el crecimiento en condiciones limitadas de magnesio ( $Mg^{2+}$ ) (Figuroa y Verdugo, 2005).

### Isla de patogenicidad 4 (SPI-4)

La SPI-4 es un segmento de 27 kb, codifica un supuesto sistema de secreción tipo I (SSTI) que media la secreción de toxinas y se cree que participa en la adaptación de *Salmonella* al ambiente intracelular en los macrófagos (Figuroa y Verdugo, 2005).

### Isla de patogenicidad 5 (SPI-5)

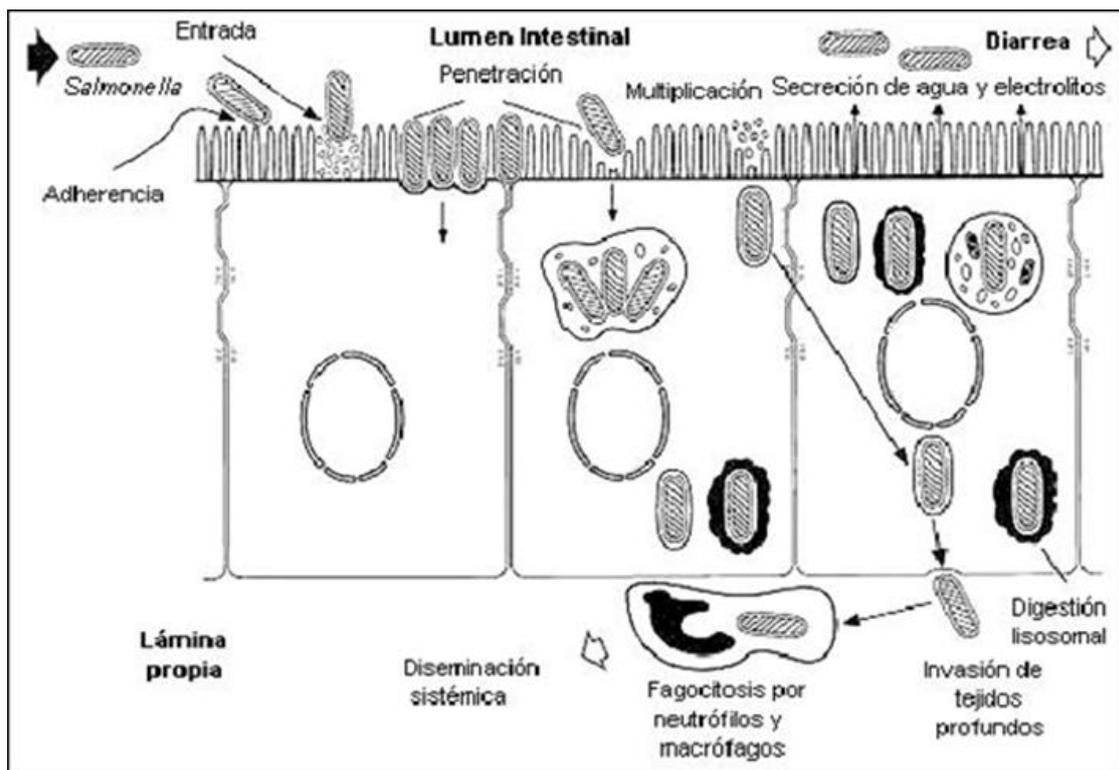
La SPI-5 es un segmento de 7.5 kb, codifica proteínas efectoras involucradas en la secreción fluida y reacción inflamatoria en la mucosa intestinal (Figuroa y Verdugo, 2005).

### Islotes de patogenicidad

Otras secuencias específicas de *Salmonella*, de menor tamaño que las SPI han sido implicadas en la virulencia y fueron denominadas islotes (Figuroa y Verdugo, 2005).

## 1.5 PATOGÉNESIS

La puerta de entrada de *Salmonella* spp. es fundamentalmente la vía oral, aunque también se puede producir por vía aerógena y conjuntival. En determinadas especies animales (bovinos, ovinos, caprinos y equinos) se producen también transmisiones intrauterinas o transplacentarias. Después de la ingestión, los microorganismos colonizan el íleon y el colon, invaden el epitelio intestinal, se multiplican intracelularmente y luego se diseminan a los nódulos linfáticos mesentéricos y vía la circulación sistémica al organismo. Allí, *Salmonella* spp. es captada por los macrófagos del sistema retículo endotelial que confinan y controlan la diseminación (Figura 2).



**Figura 2.** Esquema de la patogenia de la infección por *Salmonella* spp.

Fuente: Ralph A. Giannella, 1996.

La aparición de la enfermedad salmonelosis, depende de que estén presentes los tres factores de la triada epidemiológica: agente etiológico (virulencia de la cepa), huésped

(estado inmune y edad del hospedador) y medio ambiente (exposición o no a stress). Según la serovariedad de *Salmonella* y las defensas del huésped contra esa serovariedad algunos microorganismos pueden infectar el hígado, bazo, vejiga, médula ósea, meninges y otros órganos (Blood y Radostits, 1992).

En la patogenia de la gastroenteritis se pueden distinguir dos etapas principales:

- Adherencia
- Invasión y replicación intracelular

En líneas generales, el primer paso en la patogenicidad de *Salmonella* es la invasión de la mucosa del intestino delgado. Las bacterias se adhieren e ingresan a las células M de los folículos asociados al epitelio e invaden los enterocitos, produciendo enteritis aguda, subaguda y crónica. En un segundo paso, *Salmonella*, invade los nódulos linfáticos mesentéricos, se disemina a través de los macrófagos por los vasos linfáticos a la sangre, y finalmente infecta el hígado y el bazo (Garrity *et al.*, 2005).

## **1.6 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE *SALMONELLA* SPP.**

### **1.6.1 Método bacteriológico**

El aislamiento e identificación de *Salmonella* spp. es la técnica de oro estándar de diagnóstico de *Salmonella* spp. Los métodos tradicionales reconocidos por los organismos oficiales para la identificación de *Salmonella* spp., tienen alta sensibilidad pero demandan una gran cantidad de tiempo hasta llegar al diagnóstico porque requieren el aislamiento de colonias sospechosas y su confirmación por pruebas bioquímicas y de serotipificación. La marcha bacteriológica para la detección de *Salmonella* se basa en la norma ISO 6579: 2002, la cual fue modificada en el año 2007 para incluir el análisis de muestras de MF de animales y de muestras ambientales en la producción primaria. Otros organismos internacionales han publicado métodos estándar similares, por ej. en el Bacteriological Analytical Manual (BAM) de United States Food and Drug Administration (FDA) (FDA-BAM, 2007).

#### **1.6.1.1 Serotipificación**

La serotipificación constituye un importante complemento de la identificación bioquímica y desde el punto de vista epidemiológico permite determinar la prevalencia de una serovariedad en distintas zonas geográficas, como así también es de utilidad para el estudio de brotes y para presumir la fuente de infección.

La base de la serotipificación para todas las enterobacterias es similar: se pone en evidencia la presencia de antígenos somáticos (O) flagelares (H) y capsulares (K). En el

caso de *Salmonella* spp., las serovariedades surgen como consecuencia de una asociación particular de factores antigénicos O y H.

La técnica de serotipificación utilizada para identificar las serovariedades de *Salmonella*, se basa en una reacción antígeno-anticuerpo entre los antígenos somáticos y flagelares de la bacteria y los antisueros específicos utilizados (Caffer *et al.*, 2008). El Esquema de Kauffmann-White, agrupa a todas la serovariedades conocidas, y está publicado por el “Centro Colaborador de la OMS de Referencia e Investigación de *Salmonella*” del Instituto Pasteur de París (Grimont y Weill, 2007).

En Argentina, la serotipificación de los aislamientos de *Salmonella* spp. se realiza en el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) - Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) “Dr. Carlos G. Malbrán”, utilizando antisueros para antígenos O y H producidos por el Servicio de Antígenos y Antisueros, del Instituto Nacional de Producción de Biológicos del ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”.

### **1.6.2. Diagnóstico serológico por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA)**

Los métodos serológicos deben utilizarse para identificar poblaciones infectadas más que para identificar animales individuales infectados, aunque se pueden emplear pruebas repetidas en la explotación como una ayuda para seleccionar los animales portadores crónicos.

Normalmente, las pruebas serológicas se diseñan para detectar un número limitado de serovariedades de *Salmonella*. Se han desarrollado pruebas de ELISA para el diagnóstico de las infecciones por *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* y para otras serovariedades de animales de granja.

En cerdos, para distinguir las infecciones recientes de las antiguas, se pueden utilizar las respuestas diferenciadas que implican diferentes clases de anticuerpos (IgM, IgA, IgG), pero con frecuencia eso no es de utilidad para ensayar piaras en las que los individuos se hallan normalmente en diferentes fases de la infección. La mayoría de las pruebas se basan en la IgG, y es típico que aparezcan elevados niveles de anticuerpos entre 1 y 3 semanas después de la infección y que duren entre 2 y 3 meses (OIE, 2008).

Existen pruebas de diagnóstico comerciales, como la prueba de anticuerpos Herdcheck porcina *Salmonella* (Idexx Laboratories), la cual detecta la presencia de IgG en los sueros problema, identificando los serogrupos más comunes (B, C1, y D) aislados en Europa, Asia y América, y tiene una especificidad del 99,4% (HerdChek porcina *Salmonella*).

En el caso de los cerdos, el ELISA se utiliza para determinar la prevalencia de *Salmonella* dentro de una piara y clasificarlas en piaras de baja, moderada o alta prevalencia, lo cual permite tomar medidas estratégicas de control según el nivel de infección (Van der Wolf *et al.*, 2001a; Alban *et al.*, 2012). Sin embargo, la principal desventaja de este método diagnóstico es que puede haber animales infectados sin seroconversión (Kranker *et al.*, 2003). Además, en caso de no realizar el aislamiento

bacteriano, se pierde la posibilidad de conocer la serovariedad de *Salmonella* y su sensibilidad antimicrobiana (Parada, 2014).

Algunos animales con respuesta serológica positiva no pueden ser infectados de nuevo por *Salmonella*. De modo similar, animales que excretan activamente *Salmonella* pueden ser serológicamente negativos. También se aplican consideraciones similares a los métodos de cultivo bacteriológico, y así, los cultivos de MF con resultados negativos no indican necesariamente que el animal no está infectado (OIE, 2008).

### **1.6.3. Método de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)**

Para detectar la presencia de *Salmonella* spp. en una muestra de forma rápida se puede realizar la técnica de PCR, mediante la detección del gen *invA*, presente en todas las serovariedades de *Salmonella*, que es el gen que codifica para la invasión del epitelio intestinal. Hay protocolos estandarizados para llevar a cabo este diagnóstico rápido (Malorny *et al.*, 2003).

En contraste con las determinaciones fenotípicas, las técnicas de identificación basadas en la PCR a partir de secuencias de ADN son específicas, sensibles y reproducibles y permiten un rápido diagnóstico, que puede utilizarse como tamizaje en la detección de *Salmonella* spp. La principal desventaja del diagnóstico de *Salmonella* por PCR es la imposibilidad de realizar una caracterización completa de la cepa presente (Parada, 2014).

## **1.7. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA (RA)**

### **1.7.1. Método de difusión de disco en gel de agar**

El método de difusión en agar se basa en la técnica de Kirby-Bauer (Bauer y Kirby, 1966). Este método, conocido comúnmente como antibiograma, es el que se utiliza de rutina para determinar la sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos obtenidos en los laboratorios de bacteriología, su interpretación se realiza según las tablas de la CLSI (CLSI, 2013).

### **1.7.2. Método de dilución en agar**

El método de dilución en agar mide cuantitativamente la actividad “in vitro” de un antimicrobiano (ATM) frente a un cultivo bacteriano determinando la concentración inhibitoria mínima (CIM) (CLSI, 2013). La CIM no es un método de rutina en el laboratorio sino que se realiza para estudios de investigación.

Para analizar la CIM de un grupo de cepas bacterianas se puede calcular la CIM<sub>50</sub> y la CIM<sub>90</sub>. La CIM<sub>50</sub> es la CIM que inhibe el 50% de las cepas bacterianas y la CIM<sub>90</sub> es la CIM que inhibe el 90% de las cepas bacterianas.

## 1.8. CARACTERIZACIÓN Y SUBTIPIFICACIÓN MOLECULAR DE AISLAMIENTOS DE *SALMONELLA* SPP.

El objetivo de los sistemas de tipificación, aplicados al diagnóstico y a las investigaciones epidemiológicas, es poder discriminar aislamientos relacionados epidemiológicamente de aquellos no relacionados. La premisa básica inherente a todos los sistemas de tipificación, es que los aislamientos epidemiológicamente relacionados derivan de la expansión clonal de un único precursor. Consecuentemente, comparten características comunes que difieren de aquellos aislamientos epidemiológicamente no relacionados.

Las técnicas de subtipificación molecular sirven de complemento a las investigaciones epidemiológicas. Estas técnicas, tienen una amplia aplicación en microbiología veterinaria ya que permiten:

- a) Establecer si un animal infectado es parte o no de un brote.
- b) Detectar la vía de transmisión de patógenos.
- c) Identificar la fuente de infección en brotes y en casos esporádicos.
- d) Determinar si las cepas aisladas, pertenecen a clones previamente reconocidos como virulentos.
- e) Controlar programas de inmunización.

Las serovariedades de *Salmonella*, presentan linajes genéticos divergentes, y esta divergencia evolutiva, refleja la acumulación de mutaciones no letales al azar, como sustitución de bases, delección de fragmentos de ADN o la adquisición de ADN de otras especies microbianas. Con el desarrollo de técnicas moleculares altamente sensibles, es

posible detectar alteraciones genéticas mínimas con precisión, como así también los complejos mecanismos, que originan tales variaciones genéticas (ANLIS, 2008).

### **1.8.1. Electroforesis en campo pulsado (PFGE)**

La técnica de PFGE es una “técnica de oro” para la subtipificación de *Salmonella*, actualmente está siendo reemplazada por la técnica de "Whole Genome Sequence". La aplicación de protocolos estandarizados (Ribot *et al.*, 2006) y la alta reproducibilidad de la técnica, hacen que sea aplicable para realizar comparaciones de un alto número de aislamientos tanto intralaboratorio como interlaboratorio.

El PFGE es una técnica de subtipificación molecular que permite identificar subtipos genéticos en cepas de la misma serovariedad. Teóricamente, todos los aislamientos bacterianos son tipificables por PFGE y sus resultados son altamente confiables y reproducibles. Esta técnica es utilizada con fines epidemiológicos por su sensibilidad, reproducibilidad y alto índice discriminatorio cercano al valor ideal de 1.

La técnica de PFGE se basa en el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción de corte poco frecuente que generan un número relativamente pequeño de fragmentos grandes de ADN. El resultado de aplicar la digestión enzimática al genoma bacteriano total y su posterior electroforesis por PFGE permite obtener un patrón de bandas con excelente resolución, generalmente compuesto de 5 a 20 fragmentos diferentes que varían de tamaño desde 10 a 800 kb.

La determinación de la relación genética entre los aislamientos identificados se realiza utilizando un software de análisis de imágenes y mediante la construcción de matrices

de similitud y dendrogramas, que pueden realizarse con programas de análisis informáticos.

En el marco de la Red PulseNet Internacional, se utiliza el programa “BioNumerics” (Applied Maths) que permite normalizar las distintas corridas electroforéticas con la incorporación de un patrón de bandas constante en cada gel. Esta normalización facilita la comparación de los patrones de bandas obtenidos por PFGE en distintos geles. Con este programa, se determinan también las relaciones genéticas entre los aislamientos en base a algoritmos de distancia que consideran la presencia o ausencia de bandas asignándole un valor entre 1 ó 0, respectivamente y con la construcción de una “matriz de distancia” comparando por pares los patrones.

Entre los coeficientes empleados frecuentemente para calcular matrices de distancia se encuentran el coeficiente Dice y el de Jaccard. A partir de las matrices de distancia obtenidas, se construyen dendrogramas empleando métodos de agrupamiento como el “Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean” (UPGMA) y se establecen las relaciones genéticas entre los aislamientos.

De esta manera, se pueden crear bases de datos de los patrones de bandas, comparando nuevos perfiles genéticos con todos los perfiles almacenados en la Base de Datos Nacional (BDN), realizados con el mismo protocolo estandarizado.

En Argentina la BDN de los Subtipos genéticos de *Salmonella* se encuentra en el Servicio de Enterobacterias, del INEI – ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”.

Tenover *et al.* propusieron un criterio para interpretar epidemiológicamente los patrones de bandas obtenidos por PFGE en los casos de estudios de brotes (Tenover *et al.*, 1995).

Este criterio se aplica a un número discreto de aislamientos (hasta 30) recolectados en períodos de 1 a 3 meses como máximo; en períodos más largos estos criterios son orientativos y deberían complementarse con otras técnicas como Multilocus Sequence Typing (MLST). Se considera que los aislamientos son “no relacionados” cuando difieren en más de 7 bandas. Los criterios de interpretación de patrones electroforéticos por PFGE según Tenover *et al.* se resumen en la Tabla 4.

**Tabla 4. Criterios para la interpretación de patrones de PFGE según Tenover *et al.***

<b>Categoría</b>	<b>Nº de fragmentos diferentes comparados con el patrón del brote</b>	<b>Nº de eventos genéticos comparados con la cepa del brote</b>	<b>Interpretación epidemiológica</b>
Indistinguible	0	0	El A es parte del brote
Cercanamente relacionados	2-3	1	Probablemente el A es parte del brote
Posiblemente relacionados	4-6	2	Posiblemente el A sea parte del brote
No relacionados	7	$\geq 3$	El A no es parte del brote

Ref: N°: número; A: aislamiento;  $\geq$ : mayor o igual; PFGE: Electroforesis en campo pulsado.

Fuente: Tenover *et al.*, 1995.

Para interpretar las diferencias entre patrones de fragmentos de ADN y transformarlos en información útil que complemente los estudios epidemiológicos, hay que tener en cuenta que estos patrones pueden alterarse por eventos genéticos aleatorios:

- Mutación puntual que resulta en la creación de un sitio de restricción: al nuevo patrón le falta una banda respecto del original y presenta dos nuevas bandas más pequeñas.
- Mutación puntual que resulta en la pérdida de un sitio de restricción: el nuevo patrón pierde dos bandas pequeñas y tiene una nueva más grande.

- Inserción de ADN en un fragmento de restricción existente (el nuevo ADN no tiene ningún sitio de restricción): el nuevo patrón presenta el mismo número de bandas que el original, y muestra una banda de mayor tamaño.
- Deleción de ADN de un fragmento (el material perdido no tiene ningún sitio de restricción): El nuevo patrón muestra una banda de menor tamaño.

Estos eventos genéticos dan lugar a la definición de las cuatro categorías de relación genética y epidemiológica, enunciadas por Tenover:

- 1) Indistinguibles: Son aislamientos que muestran patrones de bandas iguales. La interpretación epidemiológica de estos resultados es que todos estos aislamientos son considerados la misma cepa.
- 2) Cercanamente relacionados: Sus patrones difieren en 2 o 3 bandas, reflejando la ocurrencia de un evento genético aislado, por ejemplo una mutación puntual, una inserción o deleción de ADN.
- 3) Posiblemente relacionados: Sus patrones muestran 4 a 6 bandas de diferencia, como consecuencia de dos eventos genéticos independientes, por simple inserción o deleción de ADN o por ganancia o pérdida de sitios de restricción.
- 4) No relacionados: Sus patrones difieren en más de 6 bandas, como consecuencia de tres o más eventos genéticos independientes.

## 1.9 SALMONELOSIS EN HUMANOS

La incidencia de la salmonelosis en humanos es mayor en los países poco desarrollados, principalmente donde hay deficiencias sanitarias. Los recién nacidos, niños, ancianos e inmunocomprometidos son los más susceptibles. Los brotes epidémicos de salmonelosis pueden ser pequeños y/o esporádicos en la población, asociados al consumo de alimentos contaminados consumidos en el hogar, pero se incrementa el número de casos en brotes ocurridos en restaurantes, jardines de infantes, geriátricos y nosocomios (WHO, 2013).

En los humanos se conocen dos patologías producidas por *Salmonella*, salmonelosis no tífica y salmonelosis tífica.

Salmonelosis no tífica: La salmonelosis en humanos es generalmente contraída a través del consumo de alimentos contaminados de origen animal, principalmente carne de cerdo, vacuno, aves de corral, huevos y leche (WHO, 2015). Es producida por serovariedades de *Salmonella* no Typhi. Las serovariedades identificadas con mayor frecuencia son *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*. En personas inmunocompetentes causan episodios de diarrea, pero en inmunocomprometidos se asocian con cuadros septicémicos, presentando localizaciones múltiples como abscesos pulmonares, osteomielitis, meningitis y pielonefritis. El cuadro de diarrea tiene un período de incubación de 6 a 72 hs y una duración de 24 a 72 hs. La dosis infectiva es de  $10^5$  a  $10^8$  microorganismos. En pacientes inmunocompetentes no se trata con ATM. En pacientes inmunocomprometidos, con bacteriemia, se administra ciprofloxacina (30 mg/kg/día) o ceftriaxona (50-75 mg/kg/día) durante 7 a 14 días (Cecchini y Gonzalez, 2008a).

Salmonelosis tífica: La OMS ha estimado que hay más de 16,6 millones de casos por año de fiebre tifoidea en todo el mundo, causando 600.000 muertes anualmente (Garriti *et al.*, 2005). Las fiebres tifoideas y paratifoideas son producidas por *S. Typhi* (fiebre tifoidea), *S. Paratyphi A*, *B* y *C* (fiebre paratifoidea) y se presentan con cuadros de septicemia y trastornos gastrointestinales respectivamente. El reservorio para *S. Typhi*, *S. Paratyphi A* y *C* es exclusivamente humano; *S. Paratyphi B* tiene reservorio en distintas especies domésticas por ej., bovinos, suinos, caninos y aves. La transmisión se produce por vía digestiva y suele haber brotes por consumo de agua contaminada. El período de incubación dura de 3 a 60 días en la fiebre tifoidea y de 1 a 10 días en las fiebres paratifoideas. El período de la enfermedad dura 2 semanas (fases septicémica y alérgico-inmunitaria) (Cecchini y Gonzalez, 2008b).

## 1.10 EPIDEMIOLOGIA DE LA SALMONELOSIS EN CERDOS

Excepto en lechones recién nacidos, la infección por *Salmonella* no suele ser la única variable necesaria para desencadenar un cuadro de salmonelosis.

La respuesta a la infección por *Salmonella* en cerdos varía según la dosis del inóculo, el estado inmunológico del animal (que a su vez depende del ingreso de calostro en neonatos), exposición previa a la infección y exposición al stress en animales de mayor edad. Generalmente, se acepta que es necesaria la intervención de algún factor precipitante como el stress durante el transporte de los animales, enfermedades concurrentes, procesos de cirugía, tratamientos con ATM o antihelmínticos, privación del alimento o parto, para causar la enfermedad una vez producida la infección (Blood y Radostits, 1992).

En aquellas granjas porcinas donde se presenta salmonelosis clínica o subclínica, la introducción de la enfermedad casi siempre se debe a la entrada de algún portador infectado. Sin embargo, es posible que la infección se propague por moscas o por el movimiento de objetos inanimados, como equipos y utensilios de limpieza. El alimento balanceado, excepto que se utilice harina de carne, no proporciona un ambiente favorable para *S. Cholerasuis*, por lo que no es común la infección transmitida por el alimento.

La supervivencia en suelo y agua es de cerca de 6 meses, y en heces de 5 semanas. No es probable su persistencia en arroyos contaminados por desechos de pjaras. Se piensa que la susceptibilidad de los porcinos a la salmonelosis, aumenta por enfermedades concomitantes, sobre todo por infecciones inmunosupresoras como circovirus porcino

tipo 2 (PCV-2), deficiencia nutricional de ácido nicotínico y otras causas de stress de la nutrición por ej., un cambio súbito de dieta (Blood y Radostits, 1992).

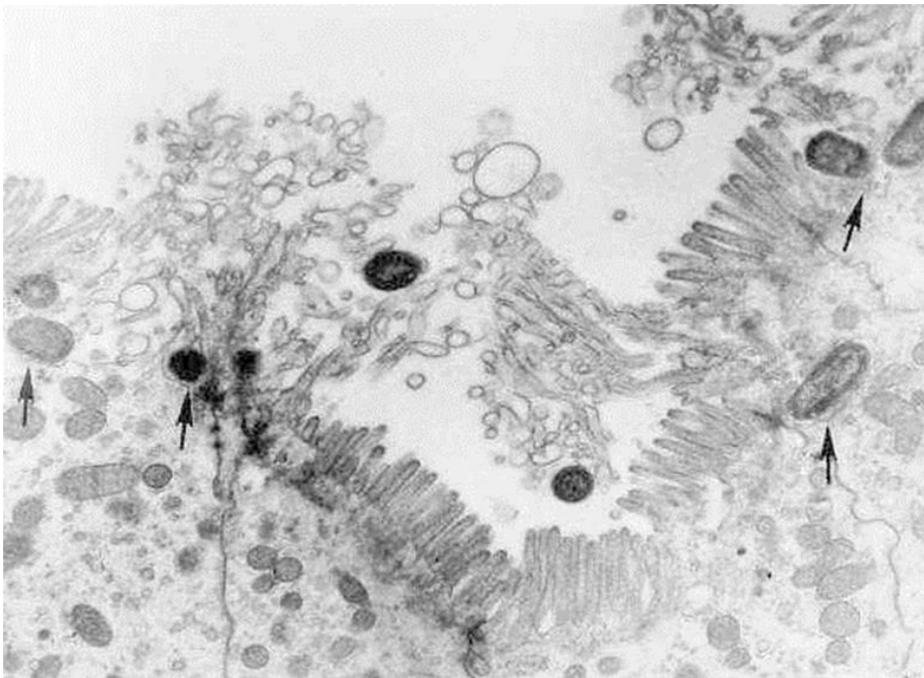
La epidemiología de las infecciones de *Salmonella* en cerdos se puede considerar desde dos aspectos: la primera es la enfermedad clínica o “salmonelosis” en cerdos, y la segunda es la infección asintomática de los cerdos con un amplio rango de serovariedades de *Salmonella*, que representan una fuente de infección a través de las carcasas y subproductos para los humanos. *Salmonella* Choleraesuis fue asociada como agente putativo de la peste porcina clásica (Salmon y Smith, 1886).

La identificación y erradicación del virus de la peste porcina clásica relegó a *S. Choleraesuis* a la clasificación como patógeno oportunista en el cerdo. Pero durante la década del 80 en Norteamérica el dramático incremento de salmonelosis en cerdos resaltó el potencial patogénico de *S. Choleraesuis*. La enfermedad que produce esta serovariedad, que está adaptada a los cerdos, se manifiesta con septicemia y enterocolitis o bacteriemia con localización y producción de neumonía y hepatitis (Baskerville y Dow, 1973), ocasionalmente meningitis (Reynolds *et al.*, 1967; Mc Erlean *et al.*, 1969), encefalitis (Wilcock y Olander, 1977) y abortos (Blood y Radostits, 1992).

En la forma septicémica en cerdos afectados por *S. Choleraesuis* se destaca una coloración roja oscura a púrpura de la piel, sobre todo en abdomen y orejas y pueden verse también hemorragias petequiales subcutáneas. Los signos nerviosos, los cuales ocurren en una gran proporción de animales afectados, incluyen temblor, debilidad,

parálisis y convulsiones. El índice de mortalidad de esta forma suele ser del 100% (Blood y Radostits, 1992).

Una pequeña cantidad de otras serovariedades están asociadas con enfermedad en los cerdos, usualmente como una causa de enterocolitis, la más notable es *S. Typhimurium* (Figura 3) y *S. Derby*, y excepcionalmente *S. Typhisuis* asociada con casos de linfadenitis (Barnes y Bergeland, 1968; Griffith *et al.*, 2012).



**Figura 3. Fotomicrografía electrónica. Demostración de invasión de células epiteliales ileales de cerdo por *S. Typhimurium*.**

Fuente: Ralph A. Giannella, 1996.

## 1.11 IMPORTANCIA DE LA SALMONELOSIS A NIVEL DE LA SALUD PÚBLICA

Según la OMS, la salmonelosis, es una de las ETA más comunes, ampliamente distribuida a nivel mundial, con una incidencia de 10 millones de casos humanos por año (WHO, 2013). Se han informado numerosos brotes de salmonelosis por décadas, pero dentro de los últimos 25 años la incidencia de la enfermedad se ha incrementado en muchos continentes (WHO, 2002). La mayoría de los casos de salmonelosis son leves, sin embargo, se pueden producir muertes por salmonelosis. La severidad de la enfermedad depende del hospedador y de la virulencia de la cepa de *Salmonella* (WHO, 2013).

En EEUU, el Centers for Disease Control and Prevention (CDC) estimó que entre los años 2000 y 2008 se produjeron en promedio por año 1.000.000 de casos de ETA por *Salmonella* spp., 19.000 casos hospitalizados y 380 muertes (CDC, 2012). En el año 2014, Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) identificó 7.452 casos de infecciones por *Salmonella* spp. El 6% de las infecciones estuvieron asociadas a brotes; las serovariedades más frecuentes fueron *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Newport*, *S. Javiana*, *S. subsp. I* (4,[5],12:i:-) y *S. Infantis* (CDC, 2015).

En la Unión Europea (UE) se presentan más de 100.000 casos de salmonelosis cada año. El organismo European Food Safety Authority (EFSA) ha estimado que la carga económica global de la salmonelosis humana podría ser tan alta como de 3 mil millones de euros al año (EFSA, 2011).

### **1.11.1 Salmonelosis por consumo de productos o subproductos de origen porcino**

La infección por *Salmonella* en los cerdos de faena tiene el potencial de traducirse en la contaminación de la carne de cerdo con *Salmonella* y producir la infección en humanos. Los riesgos para los consumidores se deben al consumo de carne de cerdo con cocción insuficiente o por contaminación cruzada con otros alimentos.

La carne de cerdo es una de las carnes más consumidas en el mundo. En el período 2003 - 2007 se observó un incremento del 3% anual en el consumo mundial de carne de cerdo. Entre el año 2006 y 2007, el consumo de carne mundial osciló en 64% de carne porcina, 20% de carne vacuna y 16% de carne aviar. Los países que tienen mayor consumo de carne porcina son China, los países miembros de la UE y EEUU (SAGPYA, 2006).

En la UE, en los casos de salmonelosis humana, las fuentes de infección más frecuentes fueron los huevos y sus subproductos, y observaron que la implicancia de la carne de pollo y de cerdo fue más común que la carne de vaca y cordero (Andreoletti *et al.*, 2008).

En Argentina, el consumo de carne porcina está representado primordialmente por fiambres y la demanda de lechones en las festividades. Se consume más carne vacuna que porcina, pero el consumo de cerdo se ha ido incrementando progresivamente en los últimos años (Papotto, 2006) como se puede observar en la Tabla 5.

**Tabla 5. Evolución del consumo de carne porcina en Argentina**

<b>Año</b>	<b>Consumo (kg/hab/año)</b>
1990	4,72
1995	6,48
2000	7,83
2007	7,94
2011	8,62
2014	10,65
2015	11,33
2016	12,88

Ref.: kg: kilogramo; hab: habitante.

Fuente: SAGPyA. SENASA. ONCCA.

Se han detectado brotes de salmonelosis por el consumo de productos o subproductos de origen porcino (Salve *et al.*, 2006).

### 1.11.2. Programas de control de la salmonelosis en el mundo

En el año 2000 la OMS, junto con el CDC y el Instituto Danés de Veterinaria, iniciaron el “Programa World Health Organization (WHO) Global *Salmonella* Surveillance”, que organizó una red global de Laboratorios e Instituciones involucradas en la vigilancia de *Salmonella* y de otros patógenos asociados a las ETA.

El WHO Global *Salmonella*-Surveillance, actualmente denominado WHO Global Infectious Diseases Network, tiene como objetivo reducir las ETA a través de la estandarización de los sistemas de vigilancia y la capacitación de los laboratorios nacionales y regionales para la generación de respuestas oportunas (WHO, 2011).

En EEUU, en el año 2006, el National Animal Health Monitoring System (NAHMS) que pertenece a United States Department of Agriculture (USDA) realizó un estudio en

granjas porcinas en 17 estados diferentes, que representaban aproximadamente el 94% del registro de cerdos de todo el país, y determinó que la prevalencia de *Salmonella* en cerdos fue del 7% (USDA, 2009). En 2007, FoodNet perteneciente al CDC a través del “Programa de Infecciones Emergentes” realizó la recolección de datos de 10 Estados de EEUU de enfermedades causadas por patógenos transmitidos por alimentos en humanos. En las áreas vigiladas por FoodNet, el 15% de los casos confirmados de ETA fue producido por *Salmonella*. La mayoría de los casos se produjeron en niños menores de 5 años (CDC, 2008).

En el año 2002, se creó el organismo EFSA en Europa, tras una serie de crisis alimentarias en la década del 90, como una fuente independiente de asesoramiento científico, para la comunicación sobre los riesgos asociados a la cadena alimentaria y como parte de un programa global para mejorar la seguridad alimentaria de la UE. En el año 2003, la UE presentó un programa de control de zoonosis, considerando a *Salmonella* como prioridad. Entre los años 2004 y 2009 han logrado reducir a la mitad los casos de salmonelosis en humanos, mediante la fijación de metas para la reducción de *Salmonella* en aves de corral y cerdos (EFSA, 2011).

### **1.11.3 Vigilancia epidemiológica de la salmonelosis a nivel molecular en el mundo**

En 1996, en EEUU, se creó una red nacional de laboratorios llamada PulseNet, la cual estaba formada por 87 laboratorios. El objetivo de PulseNet es conectar casos de ETA en conjunto para detectar y definir los brotes usando los patrones de bandas o "huellas digitales" de ADN de las bacterias mediante el método estandarizado de PFGE. PulseNet mantiene una base de datos acumulativa que representa a casi medio millón de

cepas de bacterias de los alimentos, animales, el medio ambiente y humanos asociados a ETA.

PulseNet ha revolucionado la detección e investigación de brotes de ETA, especialmente en múltiples sitios en todo el país que, antes de PulseNet, pasaban desapercibidos o se detectaban sólo después de que eran muy grandes.

A partir del éxito de PulseNet EEUU, en el mismo año (1996), para establecer redes similares se creó PulseNet Internacional, que es una red de redes regionales de laboratorios nacionales, especialmente dedicado al seguimiento de las ETA en todo el mundo.

En 2004, comenzó el programa PulseNet en América Latina (AL) y el Caribe, las instituciones que tuvieron un rol importante en la creación y fortalecimiento continuo de PulseNet son la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y el INEI - ANLIS "Carlos G. Malbrán". El INEI es el Laboratorio de Referencia Regional de la Red PulseNet de AL y el Caribe, está a cargo de los programas de control de protocolos de PFGE, apoyo técnico, el análisis, la certificación y la calidad.

PulseNet AL ha realizado la capacitación de los países participantes para determinar el genotipo de los patógenos bacterianos con protocolos estandarizados para patógenos seleccionados (*Salmonella* spp, *Vibrio cholerae*, *E. coli* O157 y STEC no-O157, *Shigella* spp, *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenes*), e inició la creación de una base de datos regional de los aislamientos; y promueve la investigación regional (PulseNet International, 2015).

Hoy participan de la vigilancia molecular de patógenos de ETA de la Red PulseNet Internacional más de 80 países de AL y el Caribe, Canadá, Europa, Oriente Medio, Asia Pacífico y África. Estas redes colaboran entre sí y con PulseNet EEUU.

#### **1.11.4 Antecedentes de casos de salmonelosis por consumo de productos o subproductos de origen porcino en Argentina**

En Argentina, el Servicio de Enterobacterias, del INEI, que es Laboratorio de Referencia Nacional de Enterobacterias, recibe aislamientos de *Salmonella* spp. de origen humano, derivados por los laboratorios participantes de la “Red Nacional de Diarreas y Patógenos Bacterianos de Transmisión Alimentaria”, como así también de animales, de alimentos y del medio ambiente. Los antecedentes de casos de salmonelosis por consumo de productos o subproductos de origen porcino son escasos.

Entre los años 2004 y 2006 se registraron en el país al menos 19 brotes de ETA, de los cuales 16 fueron causados por *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* y *S. Heidelberg* (Caffer, 2007). En el año 2005, en la provincia de La Pampa, hubo un brote de salmonelosis, que afectó a 17 personas, por el consumo de queso de cerdo elaborado artesanalmente, provocado por *S. Typhimurium* (Salve *et al.*, 2006). En el año 2012, ocurrió un brote de salmonelosis que afectó a 40 personas por el consumo de un salame casero de cerdo de criadero (Caffer, 2015, resultados no publicados).

En la provincia de Río Negro, se describieron 39 brotes de ETA, entre 1993 y 2001, que afectaron a 958 personas, el 38% fueron producidos por *Salmonella* spp. Los principales

alimentos involucrados en los brotes fueron carnes (36%), sandwiches y fiambres (10%), postres (10%) y helados (8%) (Di Pietro *et al.*, 2004).

En estudios de Nosedá *et al.* aislaron cepas de *Salmonella* spp. de muestras clínicas humanas, animales (bovinos, equinos, guanaco, nutria y pavo) y alimentos durante 1988-2001 (Nosedá *et al.*, 2002). Las serovariedades más frecuentes fueron *S. Enteritidis* (39 %), *S. Typhimurium* (25 %) y *S. Dublin* (10 %).

#### **1.11.5 Emergencia de la resistencia antimicrobiana (RA) de *Salmonella***

A principios de la década del 90, emergieron cepas de *Salmonella* resistentes a diferentes ATM, las cuales en la actualidad representan un grave problema para la Salud Pública (WHO, 2013). En cerdos se han aislado cepas de *Salmonella* spp. resistentes y multirresistentes (MDR) a diferentes ATM, incluyendo agentes de primera elección para el tratamiento de la salmonelosis en humanos, a nivel internacional (Oliveira *et al.*, 2002; Rajic *et al.*, 2004; Rosengren *et al.*, 2008; Perron *et al.*, 2008; Farrington *et al.*, 1999; Gebreyes *et al.*, 2000; Oloya *et al.*, 2007; Hölzel y Bauer, 2008; Korsak *et al.*, 2003; Emborg *et al.*, 2008; Mejía *et al.*, 2006; García-Feliz *et al.*, 2008; Romani *et al.*, 2008; Van der Wolf y Peperkamp, 2001; Thorsteinsdottir *et al.*, 2007; Takahashi *et al.*, 2006; Asai *et al.*, 2006; Futagawa *et al.*, 2008) y en nuestro país (Vigo *et al.*, 2006; Vigo *et al.*, 2009). La emergencia de dicha resistencia resulta del uso inapropiado de los ATM en humanos y animales (WHO, 2001).

### 1.11.6 *Salmonella* en cerdos a nivel internacional

Se ha demostrado que los cerdos son una importante fuente de infección de la salmonelosis humana (Boyen *et al.*, 2008). A nivel internacional, se han escrito numerosos trabajos de investigación de *Salmonella* en cerdos, con resultados variables, para determinar la prevalencia de *Salmonella*, las serovariedades, los fagotipos (García-Feliz *et al.*, 2007) y los patrones de RA de cepas aisladas en granjas porcinas (Oliveira *et al.*, 2002; Rajic *et al.*, 2004; Rosengren *et al.*, 2008; Perron *et al.*, 2008; Farrington *et al.*, 1999; Gebreyes *et al.*, 2000; Oloya *et al.*, 2007; Hölzel y Bauer, 2008; Korsak *et al.*, 2003; Emborg *et al.*, 2008; Mejía *et al.*, 2006; García-Feliz *et al.*, 2008; Romani *et al.*, 2008; Van der Wolf y Peperkamp, 2001; Thorsteinsdottir *et al.*, 2007; Takahashi *et al.*, 2006; Asai *et al.*, 2006; Futagawa *et al.*, 2008) y a partir de casos clínicos (Benson *et al.*, 1985; Huang *et al.*, 2009).

En Sudamérica, se han realizado estudios de la prevalencia y sensibilidad antimicrobiana de *Salmonella* en granjas porcinas y plantas de faena en Brasil (Kich *et al.*, 2011), Chile (Junod *et al.*, 2013) y Colombia (Arcos *et al.*, 2013b) con resultados positivos tanto en prevalencia como en resistencia antimicrobiana.

Por otro lado, se han determinado que los principales factores de riesgo que afectan a la introducción y diseminación de la infección de *Salmonella* en una explotación porcina están relacionados con la alimentación, el manejo, la sanidad y las medidas de bioseguridad (Mejía Silva, 2003).

La aparición de la RA en las granjas porcinas llevó a realizar estudios de las asociaciones potenciales entre el uso de ATM y la RA en aislamientos de *Salmonella* de

granjas de cerdos (Chen *et al.*, 2006). En otro estudio, realizado por Gebreyes *et al.*, se comparó la prevalencia y la RA múltiple de *Salmonella* en un sistema de producción porcina libre de ATM y en un sistema de producción porcina convencional, y se observó mayor probabilidad de encontrar resistencia a los antimicrobianos entre los hatos convencionales, pero también se pudieron hallar cepas específicas resistentes a múltiples fármacos en granjas libres de antimicrobianos (Gebreyes *et al.*, 2006).

Para mejorar las condiciones de la calidad de la carne de cerdo y determinar los puntos críticos de control de *Salmonella*, se realizaron muestreos en granjas porcinas, frigoríficos, medios de transporte y puntos de venta, a fin de detectar la presencia de *Salmonella* spp. en los diferentes puntos de la cadena de producción, evaluar la sensibilidad antimicrobiana y realizar análisis epidemiológicos (Michael *et al.*, 2006; Larkin *et al.*, 2004; Farrington *et al.*, 2001; Bywater *et al.*, 2004; Jonshon *et al.*, 2005; Zaidi *et al.*, 2006).

En frigoríficos se realizaron numerosos estudios para determinar la prevalencia de *Salmonella* en cerdos de faena (Bager *et al.*, 1999), las serovariedades, la sensibilidad antimicrobiana (Boughton *et al.*, 2004; Esaki *et al.*, 2004; Ogasawara *et al.*, 2008; Moreno *et al.*, 2000; Aarestrup *et al.*, 1998; Mevius *et al.*, 2000; Pocurull *et al.*, 1971) los fagotipos (Delhalle *et al.*, 2009) y los perfiles genéticos por PFGE (Angkititrakul *et al.*, 2005; Kaszanyitzky *et al.*, 2002; Seyfarth *et al.*, 1997).

Debido al incremento de la RA de bacterias zoonóticas se han implementado programas de monitoreo, control integrado y búsqueda de RA de bacterias zoonóticas (*Salmonella* spp., *E. coli* y *Campylobacter*), en la especie porcina en numerosos países del mundo

(Boyen *et al.*, 2008): Canadá, EEUU, México, Irlanda, Dinamarca, Hungría, Holanda, Noruega, España, Japón y Vietnam. Uno de los objetivos de estos programas fue determinar la prevalencia, las serovariedades y los patrones de RA de cepas de *Salmonella* aisladas de cerdos en granjas (Bywater *et al.*, 2004), alimentos de origen porcino (Johnson *et al.*, 2005; Zaidi *et al.*, 2006; Bager *et al.*, 1999; Boughton *et al.*, 2004; Esaki *et al.*, 2004; Ogasawara *et al.*, 2008; Moreno *et al.*, 2000; Aarestrup *et al.*, 1998; Mevius *et al.*, 2000), en cerdos enfermos (Pocurull *et al.*, 1971) y en frigoríficos, plantas de refinado y minoristas (Delhalle *et al.*, 2009; Angkititrakul *et al.*, 2005; Kaszanyitzky *et al.*, 2002).

En la UE, se realizó una vigilancia de *Salmonella* en cerdos de faena, entre los años 2006 y 2007, donde participaron 25 países miembros de la UE y se encontró una prevalencia de 10% de *Salmonella*; se hallaron *S. Typhimurium* (24 Estados) y *S. Derby* (20 Estados), que son dos serovariedades que causan salmonelosis en humanos (EFSA, 2008).

Aunque la infección por *Salmonella* puede resultar en enfermedad clínica, se reconoce al cerdo como un portador asintomático de bacterias de este género (Funk y Gebreyes, 2004). Bajo este concepto algunos países han realizado, por el impacto en la salud animal y Salud Pública, estudios sobre la prevalencia de *Salmonella* en granjas porcinas (Rostagno *et al.*, 2004) y la incidencia de la RA en las serovariedades de cerdos de frigorífico (Agustín *et al.*, 2005).

## 1.12. *SALMONELLA* SPP. EN CERDOS EN ARGENTINA

La zona de mayor producción porcina en nuestro país se concentra principalmente en la Región Pampeana, que coincide con el área de cultivo de maíz. Las provincias de Buenos Aires, Santa Fe y Córdoba tienen el mayor número de ganado porcino.

La salmonelosis, a nivel de la producción porcina Nacional, es una enfermedad que afecta en las etapas de crecimiento-engorde principalmente (Perfumo *et al.*, 2006), produce una disminución de la ganancia diaria de peso y de la conversión alimentaria, con las consecuentes pérdidas económicas (Carranza *et al.*, 2006).

En nuestro país, el primer reporte de *Salmonella* en cerdos con enfermedad clínica corresponde al aislamiento e identificación de *S. Cholerasuis* en 1980 a partir de un cuadro de neumonía fibrinosa (Perfumo, 1980). En el año 2004, se aisló *S. Typhimurium* variedad Copenhagen de colon, bazo e hisopado rectal de dos cerdos con colitis fibrinonecrótica y también en un cerdo con bronconeumonía asociadas a la infección de PCV-2 (Vigo *et al.*, 2004). La presencia de *Salmonella* spp. en cerdos en forma subclínica se observó en estudios bacteriológicos realizados por Vigo *et al.* en cerdos faenados donde hallaron diferentes serovariedades de *Salmonella*, incluyendo *S. Ohio*, *S. Typhimurium*, *S. Seftenberg* y *S. Rissen* (Vigo *et al.*, 2006). En el mismo trabajo se estudió la sensibilidad de los aislamientos a 17 ATM y se obtuvieron diferentes patrones de resistencia. En un estudio longitudinal realizado en una granja porcina, se estudió la prevalencia de *Salmonella*, las serovariedades y los patrones de RA, las serovariedades halladas fueron *S. 3,10:e,h:-*, *S. Muenster*, *S. Bovismorbificans*, y se observaron distintos perfiles de resistencia (Vigo *et al.*, 2009). En el año 2013,

Parada *et al.*, en un estudio realizado en una granja porcina de 6.400 madres con cuadros de salmonelosis subclínica aislaron *S. Derby* de cerdos de engorde y también reportaron aislamientos de *Salmonella* en cerdos faenados provenientes de esa granja, cuyas serovariedades más frecuentes fueron *S. Schwarzengrund*, *S. Bredeney*, *S. Saintpaul* y *S. Derby* (Parada *et al.*, 2013).

A pesar de los estudios realizados, los datos aún son escasos, especialmente en relación a la caracterización molecular de aislamientos de origen porcino y su relación con cepas asociadas a infecciones en humanos en el país.

### **1.13. OBJETIVO GENERAL**

Conocer la prevalencia y serovariedades de *Salmonella* en cerdos de granjas de cría intensiva, localizadas en las provincias de Buenos Aires y Santa Fé de la República Argentina, y en cerdos de faena provenientes de las mismas granjas; asimismo determinar su sensibilidad antimicrobiana y perfiles genéticos para compararlos con los subtipos genéticos de *Salmonella* aislados de casos humanos registrados en la Base de Datos Nacional, para conocer la importancia de éstos en la Salud Pública.

#### **1.13.1. Objetivos específicos**

1. Determinar la prevalencia de *Salmonella* en cerdos de granjas de cría intensiva y en animales en faena.
2. Conocer las serovariedades de las cepas de *Salmonella* identificadas en los aislamientos realizados.
3. Investigar la sensibilidad a diferentes antimicrobianos de uso común en Medicina Veterinaria y los utilizados para tratar la infección por el género *Salmonella* en cerdos y humanos.
4. Determinar la relación genética entre los aislamientos obtenidos en las granjas y en los frigoríficos, a fin de conocer los subtipos genéticos circulantes.
5. Determinar la relación genética entre los aislamientos de origen porcino y los aislamientos humanos circulantes en el país.
6. Relacionar las serovariedades de *Salmonella* identificadas en cerdos con los perfiles de resistencia antimicrobiana y los subtipos genéticos.

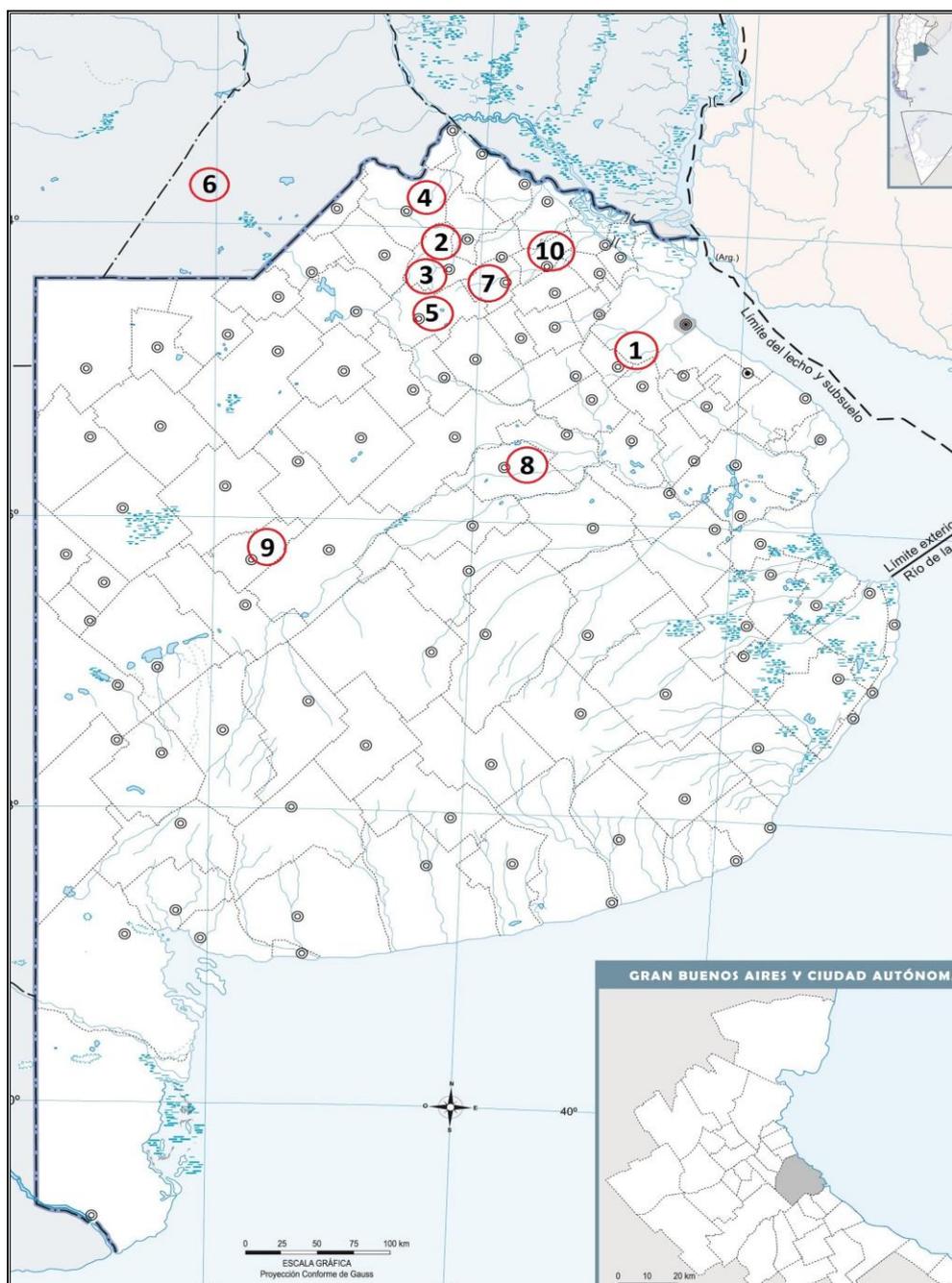
#### **1.14. HIPÓTESIS MÁS RELEVANTES**

- 1) Existen diferentes serovariedades de *Salmonella* de origen porcino que circulan en nuestro medio.
- 2) Las cepas de *Salmonella* aisladas de cerdos presentan resistencia múltiple a los antimicrobianos de uso común en veterinaria y en salud humana.
- 3) Las serovariedades y los subtipos genéticos identificados en cerdos están relacionados a subtipos asociados a infecciones en humanos.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. DISEÑO DEL ESTUDIO Y ORIGEN DE LAS MUESTRAS**

**Estudio Epidemiológico Transversal:** En el año 2007, se diseñó y realizó un estudio epidemiológico transversal en 10 granjas porcinas y 4 frigoríficos. Las granjas porcinas estaban ubicadas en distintas localidades de la provincia de Buenos Aires (granja 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 y 10) y Santa Fe (granja 6) (Figura 4).



**Figura 4. Localización geográfica de las granjas porcinas del Estudio Epidemiológico Transversal.**

Ref.: 1. Granja 1 (Marcos Paz); 2. Granja 2 (Salto); 3. Granja 3 (Salto); 4. Granja 4 (Pergamino); 5. Granja 5 (Chacabuco); 6. Granja 6 (Venado Tuerto); 7. Granja 7 (Carmen de Areco); 8. Granja 8 (Saladillo); 9. Granja 9 (Henderson); 10. Granja 10 (San Andrés de Giles).

Las granjas de este estudio enviaron los cerdos para la faena a cuatro frigoríficos diferentes, denominados con las letras A, B, C y D, que se detallan en la Tabla 6.

**Tabla 6. Distribución y procedencia de las granjas por frigorífico y fecha de muestreo.**

G.	Procedencia	Fecha de M. en G.	Frigorífico	Fecha de M. en F.
1	Marcos Paz	27/4/2007	A	28/9/2007
2	Salto	16/5/2007	B	24/9/2007
3	Salto	8/6/2007	B	31/8/2007
4	Pergamino	4/6/2007	D	6/10/2007
5	Chacabuco	15/6/2007	B	5/9/2007
6	Venado Tuerto	11/5/2007	C	29/8/2007
7	Carmen de Areco	14/6/2007	A	29/9/2007
8	Saladillo	31/5/2007	D	4/9/2007
9	Henderson	11/5/2007	D	12/10/2007
10	San Andrés de Giles	21/6/2007	D	6/11/2007

Ref: G.: granja; M.: muestreo; F: frigorífico.

En cada granja de las 10 involucradas en el estudio, se tomaron 20 muestras de MF del piso de animales sin sintomatología clínica, de diferentes categorías de animales, como se detalla a continuación: M3: posdestete (35 días), M4: final del destete (65 días), M6: crecimiento (128 días) y M8: engorde (165 días). En cada categoría se tomaron 5 muestras, correspondiendo cada muestra a 10 - 25 gr de MF del piso de un corral de 10 animales aproximadamente. Se recolectaron en total 200 muestras.

En los frigoríficos A, B, C y D se seleccionaron 20 animales por granja, excepto en animales provenientes de la granja 2 donde se pudieron tomar muestras de 13 animales. Se tomaron muestras de contenido cecal (CC) (25-75 gr) y un nódulo linfático ileocecal (LN) por animal. El total de muestras recolectadas en frigorífico se describen en la Tabla 7.

**Tabla 7. Total de muestras recolectadas en frigoríficos**

	N° total de muestras	LN	CC
Frigoríficos	386	193	193

Ref: N°: número; LN: nódulo linfático ileocecal; CC: contenido cecal.

Las muestras fueron rotuladas, refrigeradas y enviadas al Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas para su procesamiento (Facultad de Ciencias Veterinarias -UNLP).

Según la encuesta realizada previo a la toma de muestras en las 10 granjas incluidas en el estudio, se obtuvieron datos (excepto en la granja 3) de los diferentes agentes ATM que se utilizaban en las categorías M4, M6 y M8 (Tabla 8). Todas las granjas adicionaban ATM al alimento en ambas categorías.

**Tabla 8. Antimicrobianos utilizados en las categorías de destete, crecimiento y engorde**

G.	Antimicrobianos	
	M4	M6 y M8
G1	PEN, TIL, TET y AMX.	TIL, TET, LIN y CAR.
G2	AMX	TIL y TET
G3	No hay datos	
G4	FOS	TIL y TET
G5	AMX	TIL y TET
G6	AMX, LIN y ESP	TIL y TET
G7	AMX y FFC	TIL y FFC
G8	TIL	TIL, FFC y NOR
G9	NEO	TIL y TET
G10	TET y AVL	TET y AVL

Ref.: G.: granja; M4: posdestete; M6: crecimiento; M8: engorde; PEN: Penicilina, TIL: Tilosina, AMX: Amoxicilina, LIN: Lincomicina, CAR: Carbadox. ESP: Espectinomocina. FFC: Florfenicol. NOR: Norfloxacin. NEO: Neomicina. AVL: Aivlosin. TET: Tetraciclina, FOS: Fosfomicina.

## **2.2. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE LOS AISLAMIENTOS DE *SALMONELLA* SPP.**

El procesamiento de las muestras y la identificación fenotípica de los aislamientos de *Salmonella* spp. se realizó según las normas FDA/BAM/AOAC (AOAC, 2002).

El procesamiento de las muestras consistió en tomar de 10 - 25 gr de cada muestra (MF, CC y LN). El LN fue sumergido previamente en alcohol etílico al 70 % y flameado a la llama para descontaminar, luego fue triturado en una placa de Petri con tijera en condiciones de esterilidad. Se colocaron las muestras en un caldo de pre-enriquecimiento (agua peptonada y tamponada) en proporción de 1/10, se incubaron a 37 °C 24 hs. Posteriormente, 1 ml del caldo de pre-enriquecimiento fue inoculado en 10 ml de caldo de tetracionato (enriquecimiento) e incubado a 37 °C 24 hs. El contenido de un ansa de este caldo fue sembrada en placa de agar entérico Hektoen, con novobiocina (10 µg/ml) para inhibir el desarrollo de *Proteus* spp., e incubado a 37 °C 48 hs. Dos colonias con aspecto compatible con *Salmonella* spp. fueron sembradas en agar tripticasa soya por 48 hs a 37 °C. Se confirmó la tipificación de *Salmonella* spp. por TSI y LIA (Koneman *et al.*, 1999).

Los aislamientos fueron conservados en caldo cerebro corazón con 30 % de glicerol a -70°C, en el cepario del Laboratorio de Investigaciones y Diagnóstico Bacteriológico de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP.

### 2.3. ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para determinar la sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *Salmonella* spp. se realizaron las técnicas de difusión por discos y dilución en agar recomendadas por el “National Committee for Clinical Laboratory Standards” (NCCLS), actualmente denominado “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI, 2013).

Se probaron los siguientes ATM: estreptomicina (S) (10µg), gentamicina (GEN) (10µg), ampicilina (AMP) (10µg), cefotaxima (CTX) (30µg), cefalotina (CEF) (30µg), cloranfenicol (CMP) (30µg), tetraciclina (TET) (30µg), nitrofurantoína (NIT) (300µg), polimixina-B (POL-B) (300U), trimetoprima-sulfametoxazol (TMS) (1,25/23,75µg), ciprofloxacina (CIP) (5µg), ácido nalidíxico (NAL) (30µg), fosfomicina (FOS) (50µg), amikacina (AKN) (30µg) y enrofloxacina (ENR) (5µg).

La interpretación de los resultados se realizó según las tablas recomendadas por el CLSI (NCCLS, 2013; CLSI, 2013).

## 2.4 SEROTIPIFICACIÓN

La serotipificación de las cepas de *Salmonella* spp. se realizó en el Servicio Enterobacterias del INEI - ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, de acuerdo con el Esquema Internacional para la Serotipificación de *Salmonella* (Grimont y Weill, 2007), utilizando antisueros diagnósticos polivalentes, monovalentes y factores O y H, producidos y/o provistos por el Servicio Antígenos y Antisueros, del Instituto Nacional de Producción de Biológicos – ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”.

## 2.5 ELECTROFORESIS EN CAMPO PULSADO (PFGE)

La determinación de los perfiles genéticos de los aislamientos de *Salmonella* spp. se realizó por PFGE en el Servicio de Enterobacterias del INEI – ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Se aplicó el protocolo estandarizado de la Red PulseNet Internacional, CDC (Ribot *et al.*, 2006). Los moldes de agarosa conteniendo el ADN bacteriano fueron digeridos con 30 unidades (U) de *XbaI* (Promega, Madison, Wisconsin, USA). Los fragmentos de ADN fueron separados en un gel de agarosa al 1 % (SeaKem Gold, Lonza Rockland, ME., USA) en buffer TRIS-EDTA borato al 0,5X a 14 °C en un equipo CHEFF-DR III System (Biorad, Hercules, California, USA). El tiempo de corrida fue de 19 hs, con un voltaje constante de 200 V, utilizando un tiempo de pulso lineal de 2,2 - 54,2 segundos. La tinción del gel fue realizada con 0,5 µg/ml de una solución acuosa de bromuro de etidio (Biorad, Hercules, California, USA). La cepa Standard universal de la Red PulseNet, *Salmonella* Braenderup CDC H-9812, fue incluida como control y marcador de peso molecular para analizar los perfiles generados por PFGE. Todas las cepas de *Salmonella* fueron analizadas por PFGE-*XbaI*, y posteriormente los aislamientos que presentaron perfiles de PFGE indistinguibles con la enzima *XbaI*, fueron seleccionados y digeridos con 30 U de la enzima *BlnI* (Promega, Madison, Wisconsin, USA), a fin de confirmar la relación genética observada.

### 2.5.1 PFGE: Captura de imágenes y análisis de resultados

Las imágenes de los gels de PFGE fueron obtenidas a través de Gel-Doc System (Biorad, Hercules, California, USA) y fueron analizadas utilizando la versión 3.5 del programa BioNumerics (Applied Maths, Kortrijk, Belgium) que se utiliza en la Red

PulseNet Internacional. La relación entre los perfiles genéticos fue estimada por la proporción de bandas compartidas aplicando el coeficiente de Dice con 1,5 % de tolerancia y 1,5 % de optimización y se generó un dendograma basado en el método UPGMA, según los parámetros de análisis de la Red PulseNet Internacional. Los perfiles genéticos de los aislamientos de *Salmonella* spp. fueron incorporados a la BDN de Subtipos de *Salmonella*, y comparados entre sí y con respecto a los patrones disponibles en dicha Base de Datos.

La BDN de *Salmonella* se creó en el año 2005, contiene los perfiles genéticos obtenidos por PFGE-*XbaI* de 3.480 aislamientos de *Salmonella*, que pertenecen a 61 serovariedades diferentes, hasta diciembre de 2016. Estos aislamientos incluyen cepas de origen humano, animales, medio ambiente y de alimentos recuperados entre 2004 y 2016, y también una pequeña selección de cepas de años anteriores (de 1969 a 2004). Esta Base de Datos contiene diferentes perfiles genéticos de *Salmonella*. La variabilidad genética de *Salmonella* varía según la serovariedad: hay serovariedades más clonales, es decir que presentan menor número de perfiles genéticos diferentes, como *S. Enteritidis* y otras con más diversidad genética como *S. Typhimurium*.

Para interpretar los perfiles genéticos obtenidos por PFGE se utilizó como guía el criterio de análisis de Tenover (Tenover *et al.*, 1995), con consideraciones de acuerdo a los períodos de tiempo y las serovariedades analizadas.

## 2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La prevalencia de *Salmonella* en las granjas y en los frigoríficos se determinó utilizando el método de análisis Bayesiano de proporción de una población del programa de Análisis Epidemiológico de Datos Tabulados (EPIDAT) versión 3.1.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 PREVALENCIA Y SEROVARIEDADES DE *SALMONELLA* SPP. EN GRANJAS

La prevalencia de *Salmonella* spp. en granjas fue del 4% (DS +/- 1%) (Anexo1).

Sobre 10 granjas estudiadas, en 3 de ellas, G7, G9 y G10, se aisló *Salmonella* spp. La prevalencia de granjas positivas fue del 33% (DS +/-1%) (Anexo 2).

En las granjas positivas, del procesamiento de 200 "pools" de materia fecal, se aislaron 8 cepas de *Salmonella* spp. en lechones de diferentes etapas de desarrollo (Tabla 9). Se obtuvieron mayor número de aislamientos de *Salmonella* spp. en muestras de lechones en etapa de crecimiento.

**Tabla 9. Número de aislamientos obtenidos por etapa de desarrollo en granjas**

Granja	Etapa	Nº de aislamientos
G7 - Carmen de Areco	M6	1
G9 - Henderson	M6	1
	M8	1
G10 - San Andrés de Giles	M4	1
	M6	3
	M8	1

Ref.: M4: posdestete; M6: crecimiento; M8: engorde; G: granja; Nº: número.

Se identificaron 4 serovariedades de *Salmonella*. En la granja 7, el aislamiento fue identificado como *S. Seftenberg*. En la granja 9, las dos cepas fueron tipificadas como *S. Agona* y *S. Tennessee*. Las 5 cepas de *Salmonella* de la granja 10 fueron identificados como *S. Typhimurium*.

### 3.2 PREVALENCIA Y SEROVARIEDADES DE *SALMONELLA* SPP. EN FRIGORÍFICOS

La prevalencia de *Salmonella* spp. en frigoríficos fue del 24% (DS +/- 1%) (Anexo 3).

En los frigoríficos A, B, C y D, a partir del procesamiento de las 386 muestras de CC (n=193) y LN (n=193) se obtuvieron 93 aislamientos de *Salmonella* spp., correspondiendo 52 aislamientos (13,5%) a CC y 41 (10,5%) a LN.

Los aislamientos obtenidos en frigoríficos se encontraron en muestras procedentes de todas las granjas comprendidas en el estudio, excepto la granja 10.

La cantidad y el porcentaje de cepas de *Salmonella* aisladas en cada frigorífico fue la siguiente: frigorífico **A**= 23 (24,7%), frigorífico **B**= 21 (22,6%), frigorífico **C**= 13 (14%) y frigorífico **D**= 36 (38,7%).

En los frigoríficos, se hallaron 15 serovariedades diferentes de *Salmonella* entre las 93 aisladas: *S. Schwarzengrund*, *S. Heidelberg*, *S. subsp. I* (6,8:e,h:-), *S. Derby*, *S. Bredeney*, *S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Infantis*, *S. Newport*, *S. Orion*, *S. Rissen*, *S. Anatum*, *S. Seftenberg*, *S. Adelaide* y *S. subsp. I* (1,3,19:-:-).

Las serovariedades aisladas en frigoríficos provenientes de diferentes granjas, fueron: *S. Derby* de 5 granjas, *S. Typhimurium* de 4 granjas, *S. Schwarzengrund* de 3 granjas y *S. Rissen* de 2 granjas.

Las 93 cepas de *Salmonella* spp. se obtuvieron de 73 animales. En 32 animales se aisló *Salmonella* spp. de CC, en 21 animales de LN y en 20 animales de ambas muestras. En

este último grupo, en 12 animales se identificó la misma serovariedad de *Salmonella* tanto en CC como en LN. Las serovariedades halladas en los diferentes animales fueron: *S. Bredeney* (n=1), *S. subsp. I (6,8:e,h:-)* (n=4), *S. Newport* (n=1), *S. Heidelberg* (n=2) y *S. Schwarzengrund* (n=4).

En los 8 animales restantes se aislaron 2 serovariedades diferentes en cada muestra, las combinaciones de las diferentes serovariedades de *Salmonella* halladas en un mismo animal en CC y LN cecal respectivamente fueron: *S. Schwarzengrund/S. Heidelberg* (n=2), *S. Typhimurium/S. subsp. I (6,8:e,h:-)* (n=1), *S. Infantis/S. Schwarzengrund* (n=1), *S. Schwarzengrund/S. Infantis* (n=2), *S. Anatum/S. Schwarzengrund* (n=1) y *S. Adelaide/S. Bredeney* (n=1).

Las serovariedades más frecuentes en frigorífico fueron *S. Schwarzengrund*, *S. Heidelberg*, *S. subsp. I (6,8:e,h:-)*, *S. Derby*, *S. Bredeney* y *S. Typhimurium* (Figura 5).

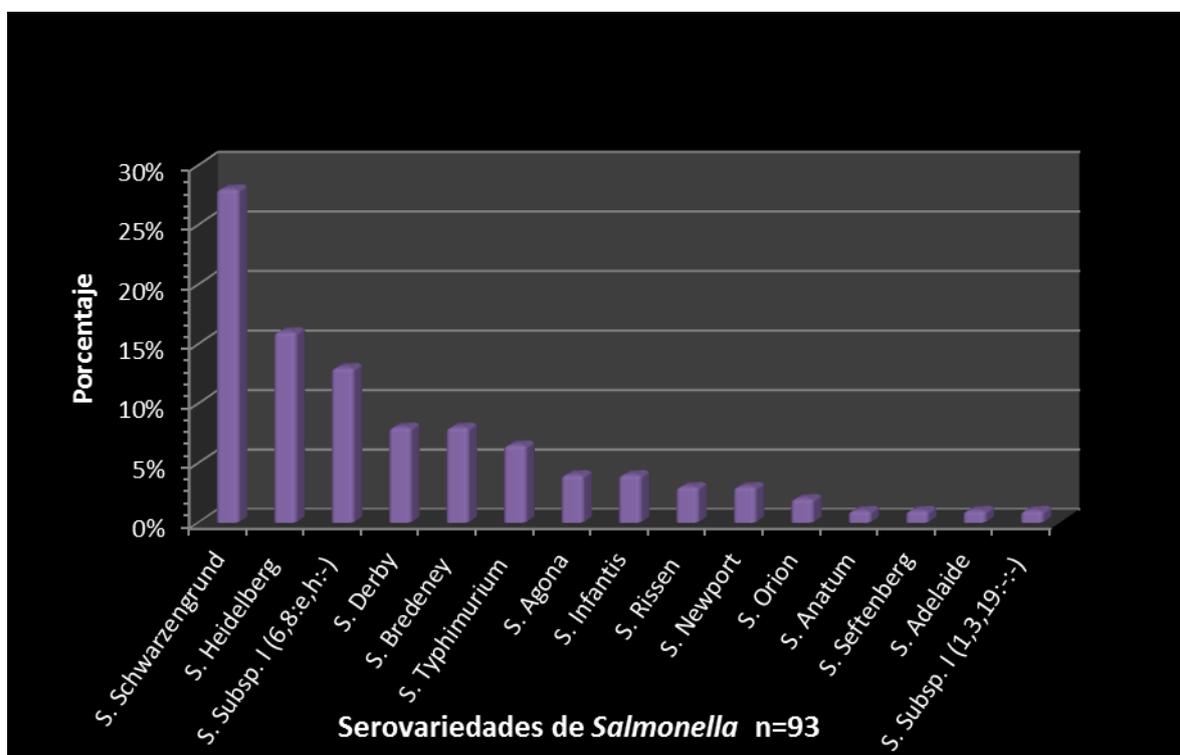


Figura 5. Porcentaje de serovariedades de *Salmonella* aisladas en frigoríficos.

En la tabla 10 se muestra la distribución y número de las serovariedades de *Salmonella* aisladas en frigoríficos, según tipo de muestra y granja de origen.

**Tabla 10. Distribución y número de las serovariedades de *Salmonella* aisladas en frigoríficos, según tipo de muestra y granja de origen**

<b>Frigorífico</b>	<b>Procedencia</b>	<b>Serovariedad</b>	<b>Nº</b>	<b>CC</b>	<b>LN</b>
A	G1	<i>S. Heidelberg</i>	15	6	9
		<i>S. Schwarzengrund</i>	3	3	0
	G7	<i>S. Derby</i>	1	0	1
		<i>S. Orion</i>	2	2	0
		<i>S. subsp I (1,3,19:-:-)</i>	1	1	0
		<i>S. Seftenberg</i>	1	1	0
B	G2	<i>S. subsp I (6,8:e,h)</i>	12	5	7
		<i>S. Newport</i>	3	1	2
		<i>S. Typhimurium</i>	1	1	0
		<i>S. Derby</i>	1	1	0
	G3	<i>S. Typhimurium</i>	3	3	0
	G5	<i>S. Typhimurium</i>	1	0	1
C	G6	<i>S. Bredeney</i>	7	4	3
		<i>S. Derby</i>	3	1	2
		<i>S. Adelaide</i>	1	1	0
		<i>S. Rissen</i>	2	0	2
D	G4	<i>S. Schwarzengrund</i>	20	13	7
		<i>S. Infantis</i>	4	2	2
		<i>S. Rissen</i>	1	1	0
		<i>S. Anatum</i>	1	1	0
	G8	<i>S. Schwarzengrund</i>	3	0	3
		<i>S. Derby</i>	1	0	1
	G9	<i>S. Agona</i>	4	4	0
		<i>S. Derby</i>	1	1	0
		<i>S. Typhimurium</i>	1	0	1
	<b>Total</b>			<b>93</b>	<b>52</b>

Ref: G: Granja; Nº: número; CC: Contenido cecal; LN: Linfonódulo; subsp: subespecie.

### 3.3 SENSIBILIDAD Y PERFILES DE RESISTENCIA DE *SALMONELLA* EN GRANJAS Y FRIGORÍFICOS

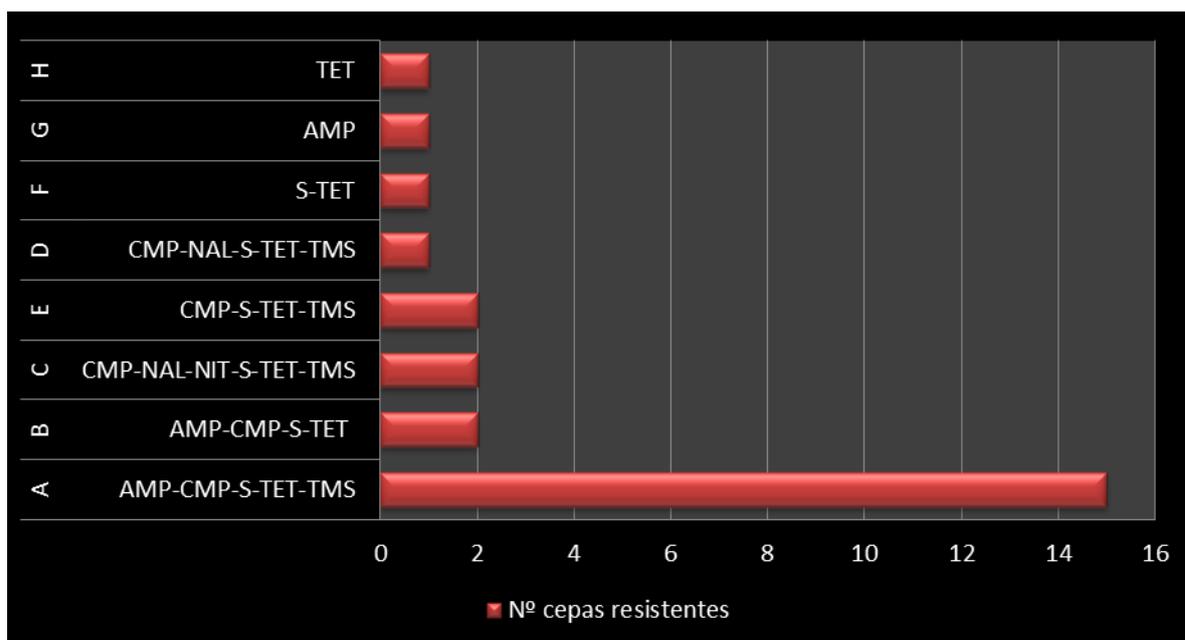
#### 3.3.1 Sensibilidad y resistencia antimicrobiana de *Salmonella* en granjas

Cinco (75%) de las 8 cepas de *Salmonella* spp. aisladas de granjas presentaron resistencia a uno o dos ATM a saber: en granja 9, *S. Agona* de la etapa M6 fue resistente a TET. En la granja 10, las 5 cepas de *S. Typhimurium* obtenidas en distintas etapas de desarrollo (M4, M6 y M8) presentaron el patrón de resistencia AMP-TET.

Los 2 aislamientos restantes (25%) de *Salmonella* obtenidos en granja fueron sensibles a todos los ATM probados, correspondiendo a los aislamientos de *S. Seftenberg* y *S. Tennessee* de las granjas G7 y G9 respectivamente.

#### 3.3.2 Sensibilidad y resistencia antimicrobiana de *Salmonella* en frigoríficos

De las 93 cepas de *Salmonella* spp. aisladas en frigoríficos, en 25 (27%) se observó resistencia a 1 o más ATM. Veintidós de las 25 cepas fueron MDR (24%) de 4 hasta a 6 ATM. En la figura 6 se pueden observar los 8 patrones de RA relacionados a las serovariedades de *Salmonella* que presentaron resistencia a uno o más ATM.



Ref: AMP: Ampicilina; CMP: Cloranfenicol; NAL: Ácido Nalidíxico; NIT: Nitrofurantoína; S: Streptomina; TET: Tetraciclina; TMS: Trimetoprima-Sulfametoxazole.

**Figura 6. Número de cepas resistentes y patrones de resistencia antimicrobiana de *S. Heidelberg* (A), *S. Typhimurium* (C, D, F y H), *S. Orion* (E) y *S. Derby* (B y G) aisladas en frigoríficos.**

Los 68 aislamientos restantes (73%) obtenidos en frigorífico fueron sensibles a todos los ATM probados. Diferentes serovariedades de *Salmonella*, entre ellas *S. Heidelberg* (n=11), *S. subsp. I* (6,8:e,h:-) (n=1), *S. Typhimurium* (n=1), *S. Schwarzengrund* (n=2) y *S. Derby* (n=1), presentaron sensibilidad intermedia a NIT. *Salmonella* Bredeney (n=1) presentó sensibilidad intermedia a AMP-CEF.

### 3.3.3. Análisis de la sensibilidad de *Salmonella* spp. por ATM en granjas y frigoríficos

Para analizar la sensibilidad o resistencia de las 101 cepas de *Salmonella* aisladas de granjas y frigoríficos a cada ATM ensayado en este estudio, se calculó la CIM<sub>50</sub> y CIM<sub>90</sub> y el porcentaje de cepas sensibles, intermedias y resistentes. Todas las cepas de *Salmonella* aisladas de granjas y frigoríficos fueron sensibles a AKN, CIP, CTX, ENR, GEN, FOS, POL-B, CEF, excepto una cepa que presentó sensibilidad intermedia a este último ATM. Los ATM que tuvieron mayor porcentaje de resistencia en forma decreciente fueron TET, AMP, CMP, S y TMS. Los porcentajes de resistencia a NAL y NIT fueron bajos (Tabla 11).

**Tabla 11. CIM<sub>50</sub> y CIM<sub>90</sub> de las 101 cepas de *Salmonella* aisladas en granjas y frigoríficos**

ATM	Rango CIM	CIM <sub>50</sub>	CIM <sub>90</sub>	%R	%I	%S
AKN	0,25-256	1	2	0	0	100
AMP	2-128	4	128	22	1	77
CEF	4-128	4	8	0	1	99
CIP	0,0004-16	0,03	0,03	0	0	100
CMP	0,5-128	8	128	22	0	78
CTX	0,008-256	0,12	0,12	0	0	100
ENR	0,008-8	0,06	0,06	0	0	100
GEN	0,06-64	0,25	0,5	0	0	100
FOS	0,12-1024	1	4	0	0	100
NAL	1-128	4	4	3	0	97
NIT	1-512	32	64	2	16	82
POL-B	0,06-128	1	2	0	0	100
S	2-128	8	128	22	0	78
TET	0,5-64	4	64	30	0	70
TMS	0,25/4,75-16/304	0,25/4,75	16/304	20	0	80

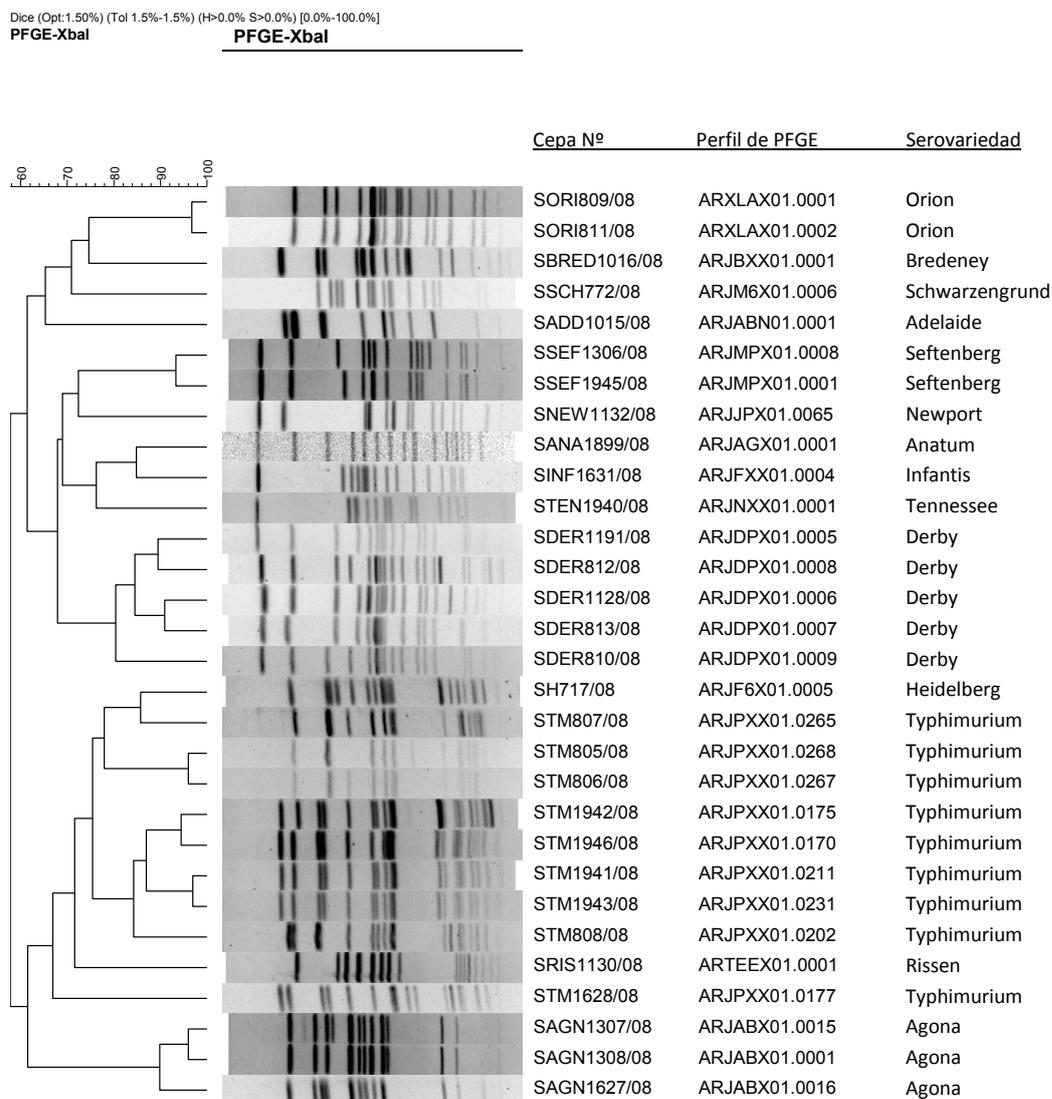
Ref.: ATM: Antimicrobiano; R: Resistente; I: Intermedia; S: Sensible; CIM: Concentración Inhibitoria Mínima; AKN: Amicacina; AMP: ampicilina; CEF: Cefalotina; CIP: Ciprofloxacina; CMP: Cloranfenicol; CTX: Cefotaxima; ENR: Enrofloxacin; GEN: Gentamicina; FOS: Fosfomicina; NAL: Ácido Nalidixico; NIT: Nitrofurantoína; POL-B: Polimixina-B; S: Streptomycin; TET: Tetraciclina; TMS: Trimetoprima-sulfametoxazole.

### **3.4 CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA DE LOS AISLAMIENTOS DE *SALMONELLA* DE GRANJAS Y FRIGORÍFICOS.**

#### **3.4.1 PFGE-*XbaI***

Los resultados del análisis por PFGE con la enzima *XbaI* de las cepas de granjas y frigoríficos se muestran en las figuras 7 - 21.

De los 101 aislamientos de *Salmonella* analizados por PFGE-*XbaI*, se obtuvieron 30 perfiles genéticos o pulsotipos diferentes, con un promedio de 13 bandas cada uno, con fragmentos de ADN entre 20 Kb y 1100 Kb (Figura 7).



**Figura 7. Dendrograma con los 30 perfiles genéticos obtenidos por PFGE-*XbaI* de las cepas de *Salmonella* aisladas de granjas y frigoríficos.**

Los perfiles de PFGE obtenidos fueron incorporados a la BDN de Subtipos Genéticos de *Salmonella* spp. y se les asignó a cada uno un código basado en la nomenclatura de

la Red PulseNet (PulseNet Internacional, 2015), excepto la cepa denominada *S. Typhimurium* 1187/08 cuyo perfil de PFGE no fue agrupado (N/A) con los subtipos de *S. Typhimurium* de la BDN ni con ninguna otra serovariedad y la cepa 1305/08 *S. subsp. I* (1,3,19:-:-) para cuya fórmula aún no se ha asignado un código de PulseNet.

Se denomina "cluster" a un grupo de aislamientos con el mismo perfil genético. En nuestro estudio se encontraron 9 clusters, correspondiendo cada uno a serovariedades diferentes: *S. Schwarzengrund*, *S. Heidelberg*, *S. Newport* y *S. subsp. I* (6,8:e,h:-), *S. Bredeney*, *S. Agona*, *S. Derby*, *S. Infantis*, *S. Rissen* y *S. Typhimurium*.

Todas las cepas de *S. Schwarzengrund* (n=26) aisladas de LN y/o CC presentaron un mismo perfil genético formando un cluster, de las cuales 3 cepas se aislaron en el frigorífico A y provenían de cerdos de la granja G1 (Marcos Paz), el resto de las cepas se aislaron en el frigorífico D y pertenecían a cerdos de la granjas G4 (Pergamino) (n=18) y G8 (Saladillo) (n=3) (Figura 8).

Dice (Opt: 1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
PFGE-*Xba*I



**Figura 8. Dendrograma con los perfiles genéticos de PFGE-*Xba*I de *S. Schwarzengrund*.**

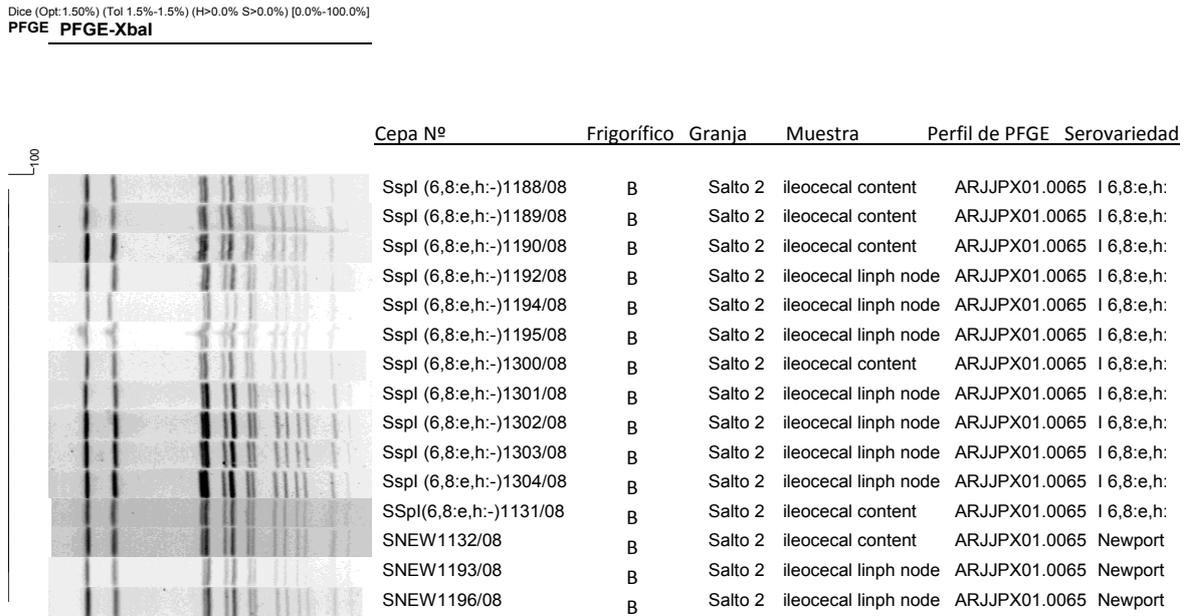
Las cepas de *S. Heidelberg* aisladas (n=15) de CC y/o LN en el frigorífico A provenientes de la misma granja G1 (Marcos Paz) presentaron un mismo pulsotipo, identificándose un cluster (Figura 9).

Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
 PFGE-Xb: **PFGE-XbaI**



**Figura 9. Dendrograma con los perfiles genéticos de PFGE-XbaI de *S. Heidelberg*.**

Todas las cepas de *S. subsp. I* (6,8:e,h:-) (n=12) presentaron un mismo perfil genético y se agruparon con todas las cepas de *S. Newport* (n=3), ambas fueron aisladas de LN/CC de cerdos provenientes de G2 (Salto), formando parte del mismo cluster (Figura 10).



**Figura 10. Dendrograma con los perfiles genéticos de PFGE-XbaI de *S. Newport* y *S. subsp. I* (6,8:e,h:-).**

En todas las cepas de *S. Bredeney* (n=7), se identificó un mismo perfil genético agrupándose en un cluster que correspondió a cepas aisladas de CC y/o LN en el frigorífico C de cerdos de la misma granja (G6) (Figura 11).

Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
 PFGE-: PFGE-XbaI



**Figura 11. Dendrograma con los perfiles genéticos de PFGE-XbaI de *S. Bredeney*.**

Entre los aislamientos de *S. Agona* analizados (n=5) uno aislado de materia fecal en la granja G9 y cuatro en frigorífico procedentes de esa misma granja, se obtuvieron 3 perfiles genéticos diferentes. Pero se encontró un cluster que abarcó la cepa de *S. Agona* de granja y 2 aislamientos aislados de LN de diferentes animales en el frigorífico D. Mientras que los otros 2 aislamientos de frigorífico presentaron perfiles diferentes, correspondiendo a las cepas 1307/08 y 1627/08 con 1 y 2 bandas de diferencia respectivamente (Figura 12).

Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
PFGE-XbaI PFGE-XbaI



Ref: \*Etapa de desarrollo (cepa aislada en granja).

**Figura 12. Dendrograma con los perfiles genéticos de PFGE-XbaI de *S. Agona*.**

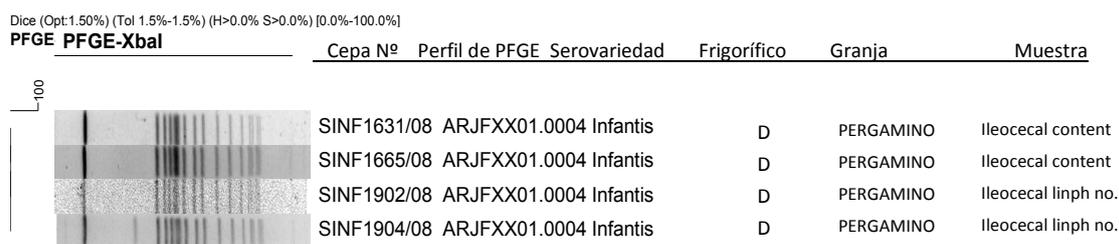
Entre los aislamientos de *S. Derby* analizados (n=7) se obtuvieron 5 perfiles diferentes. Un cluster abarcó 3 cepas aisladas en frigorífico C que provenían de la misma granja (G6). En este último caso, 2 de las 3 cepas presentaron una banda de menor intensidad, la cual no fue considerada para el análisis probablemente correspondiente a digestión incompleta de fragmentos. Los otros 4 aislamientos de *S. Derby*, que se aislaron en diferentes frigoríficos y pertenecían a distintas granjas, presentaron perfiles genéticos diferentes, a saber, en el frigorífico A (G7-Carmen de Areco) (Coef. Dice 86%, 3 bandas de diferencia), en el B (G2-Salto) (Coef. Dice 90%, 2 bandas de diferencia) y en el D (G8-Saladillo) (Coef. Dice 90%, 2 bandas de diferencia) y (G9-Henderson) (Coef. Dice 86%, 3 bandas de diferencia) (Figura 13).

Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
**PFGE-XbaI PFGE-XbaI**



**Figura 13. Dendrograma con los perfiles genéticos de PFGE-XbaI de *S. Derby*.**

Entre los aislamientos de *S. Infantis* (n=4) analizados se identificó un cluster que agrupó a todas las cepas aisladas de CC y LN de diferentes animales en el frigorífico D provenientes de la misma granja (G4) (Figura 14).



**Figura 14. Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de *S. Infantis*.**

En *S. Typhimurium*, de los 5 aislamientos obtenidos en granja (G10) se identificaron 4 perfiles genéticos diferentes, uno de los cuales pertenece a un cluster que agrupó 2 cepas aisladas de diferentes etapas de desarrollo M4 y M8. Los otros 3 perfiles genéticos hallados pertenecen a 3 cepas aisladas de la misma etapa de desarrollo M6.

Las 3 cepas de *S. Typhimurium* aisladas en el frigorífico B de cerdos que provenían de la misma granja (G3) presentaron perfiles genéticos diferentes pero altamente relacionados genéticamente. Dos cepas de *S. Typhimurium* de diferentes granjas (G5 y G9) presentaron patrones genéticos distintos y una cepa de *S. Typhimurium* no agrupó dentro de las ramas de 1.611 aislamientos de esta serovariedad en la BDN, por lo tanto no se le asignó patrón y se denominó como N/A (no agrupable) (Figura 15).

Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
PFGE-XbaI: PFGE-XbaI



Ref: \*Etapa de desarrollo (cepa aislada en granja).

**Figura 15. Dendrograma con los perfiles genéticos de PFGE-XbaI de las 11 cepas de *S. Typhimurium*.**

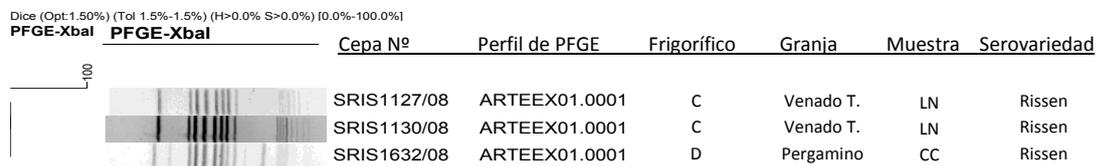
Los 2 aislamientos de *S. Orion* aislados de CC en frigorífico de G7 mostraron 2 perfiles genéticos similares, (Coef. Dice 95%, una banda de diferencia) (Figura 16).

Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
PFGE-XbaI PFGE-XbaI



**Figura 16. Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-XbaI de *S. Orion*.**

Los 3 aislamientos de *S. Rissen* aislados en los frigoríficos C y D de granjas diferentes (G6 y G4), presentaron el mismo perfil genético (Figura 17).



**Figura 17. Dendrograma con los perfiles genéticos de PFGE-*XbaI* de *S. Rissen*.**

Los 2 aislamientos de *S. Seftenberg*, uno aislado de materia fecal en granja G7 y el otro aislado de CC en frigorífico A proveniente de la misma granja, presentaron 2 perfiles genéticos diferentes, con 4 bandas de diferencia (Figura 18).

Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
**PFGE-Xba PFGE-XbaI**

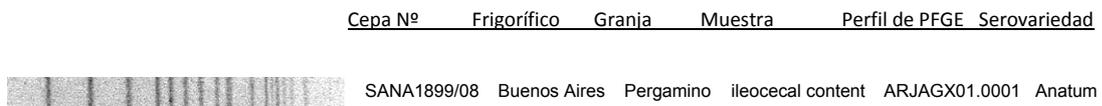
	Cepa Nº	Lugar de aislamiento	Muestra	Perfil de PFGE	Serovariedad
	SSEF1306/08	A	Carmen de Areco ileocecal content	ARJMPX01.0008	Senftenberg
	SSEF1945/08	M6*	Carmen de Areco Stool	ARJMPX01.0001	Senftenberg

Ref: \*Etapa de desarrollo (cepa aislada en granja).

**Figura 18. Dendograma con los perfiles genéticos de PFGE-XbaI de las cepas de *S. Seftenberg*.**

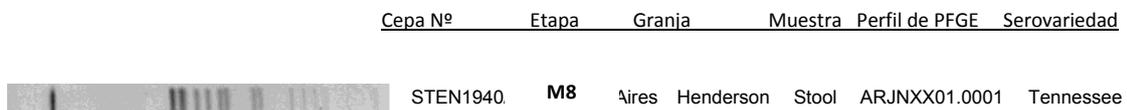
Hubo 3 serovariedades en las que se obtuvo un solo aislamiento, *S. Anatum*, *S. Tennessee* y *S. Adelaide*. El patrón genético de cada una de estas serovariedades se puede observar en las figuras 19, 20 y 21 respectivamente.

PFGE-XbaI



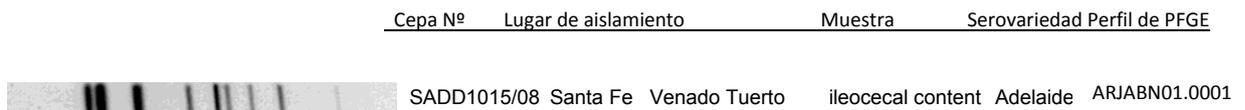
**Figura 19. Perfil genético de PFGE-*XbaI* de *S. Anatum*.**

PFGE-XbaI



**Figura 20. Perfil genético de PFGE-*XbaI* de la cepa de *S. Tennessee*.**

PFGE-XbaI



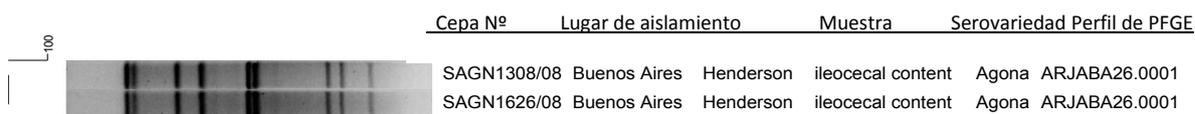
**Figura 21. Perfil genético de PFGE-*XbaI* de la cepa de *S. Adelaide*.**

### 3.4.2. PFGE-*BlnI*

Se utilizó la técnica de PFGE-*BlnI* sólo para complementar el análisis realizado con *XbaI* en una selección de aislamientos (n=22). El criterio de selección se basó fundamentalmente en la inclusión de cepas que tuvieran el mismo perfil genético de PFGE-*XbaI*, con distintas características según disponibilidad, en relación a granja de origen, categoría de cerdo, frigorífico y origen de las muestras (CC o LN). De acuerdo al primer parámetro, las serovariedades que tuvieron el mismo perfil genético por PFGE-*XbaI* fueron *S. Agona*, *S. Bredeney*, *S. Derby*, *S. Heidelberg*, *S. Infantis*, *S. Newport*, *S. subsp. I (6,8:e,h:-)*, *S. Schwarzengrund* y *S. Typhimurium*. Los perfiles genéticos obtenidos por PFGE-*BlnI* de las cepas seleccionadas se pueden observar en las figuras 22 - 29.

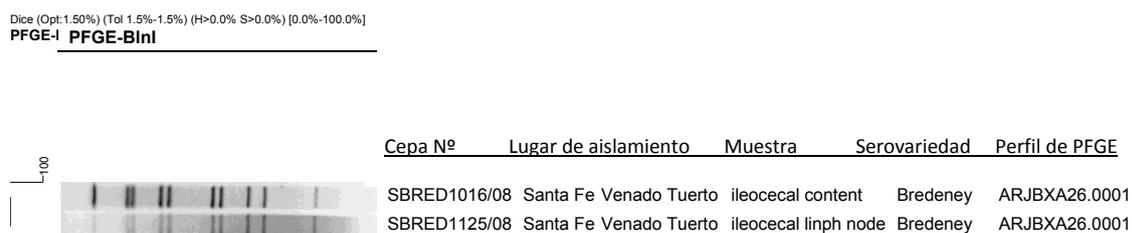
En *S. Agona* se seleccionaron 2 cepas aisladas en frigorífico de la misma granja (G9), de animales diferentes, mismo tipo de muestra CC. Los dos aislamientos tuvieron el mismo perfil genético (Figura 22).

Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
PFGE-E PFGE-*BlnI*



**Figura 22. Dendrograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de 2 aislamientos seleccionados de *S. Agona*.**

En *S. Bredeney* se seleccionaron 2 cepas aisladas en frigorífico de la misma granja (G6) de animales diferentes y de diferente tipo de muestra CC y LN. Los perfiles genéticos por PFGE-*BlnI* fueron iguales, indicando que tienen el mismo patrón genético (Figura 23).



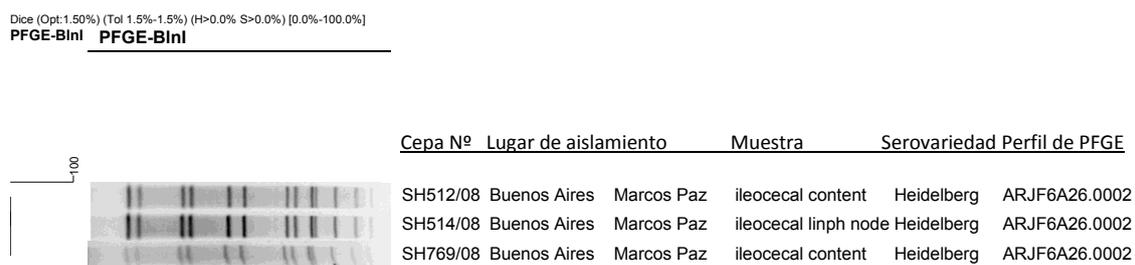
**Figura 23. Dendrograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de 2 aislamientos seleccionados de *S. Bredeney*.**

En *S. Derby* se seleccionaron 2 cepas aisladas en frigorífico de la misma granja (G6) de animales diferentes y de diferente tipo de muestra CC y LN. Los perfiles genéticos por PFGE-*BlnI* fueron iguales, corroborando la misma identidad genética (Figura 24).



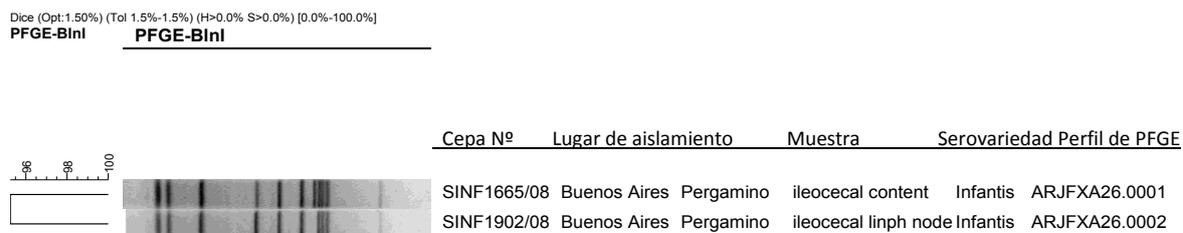
**Figura 24. Dendrograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de 2 aislamientos seleccionados de *S. Derby*.**

En *S. Heidelberg* se seleccionaron 3 cepas aisladas en frigorífico de la misma granja (G1) de animales diferentes, diferente tipo de muestra 2 de CC y 1 de LN. Los 3 aislamientos presentaron el mismo perfil genético por PFGE-*BlnI*, indicando que son cepas genéticamente idénticas (Figura 25).



**Figura 25. Dendograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de 3 aislamientos seleccionados de *S. Heidelberg*.**

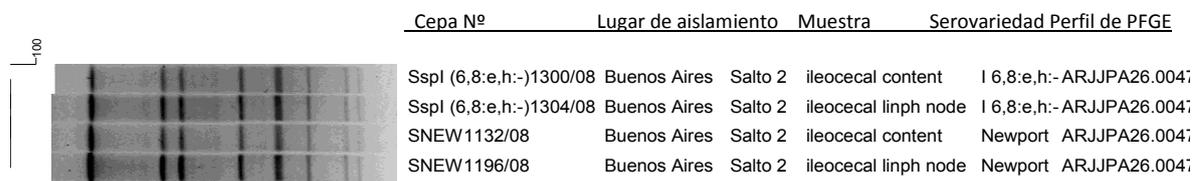
En *S. Infantis* se seleccionaron 2 cepas aisladas en frigorífico de la misma granja (G4) de animales diferentes, diferente tipo de muestra CC y LN. Los perfiles genéticos por PFGE-*BlnI* mostraron una banda de diferencia (Coef. Dice 95%) (Figura 26).



**Figura 26. Dendograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de 2 aislamientos seleccionados de *S. Infantis*.**

En *S. Newport* y *S. subsp. I* (6,8:e,h:-) se seleccionaron 2 cepas de cada serovariedad aisladas en frigorífico de la misma granja (G2) de animales diferentes y diferente tipo de muestra CC y LN. Los perfiles genéticos de los 4 aislamientos por PFGE-*BlnI* fueron iguales (Figura 27).

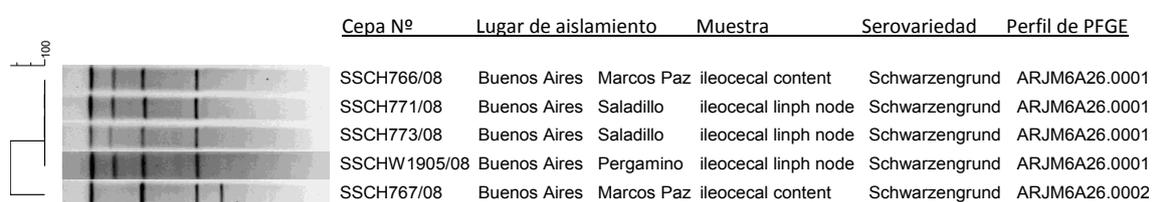
Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
PFGE PFGE-*BlnI*



**Figura 27. Dendrograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de la selección de 2 aislamientos de *S. Newport* y 2 de *S. subsp. I* (6,8:e,h:-).**

En *S. Schwarzengrund* se seleccionaron 2 cepas aisladas en frigorífico de G8, 1 cepa aislada en frigorífico de G4 y 2 cepas aisladas en frigorífico de G1. Los perfiles de los aislamientos de G8, G4 y uno de las cepas de G1 fueron iguales. La otra cepa de G1 mostró un perfil genético con dos bandas de diferencia (Figura 28). Para esta serovariedad, la enzima *BlnI* generó patrones de PFGE con un bajo número de bandas.

Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
**PFGE-I PFGE-BlnI**



**Figura 28. Dendrograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de la selección de 5 aislamientos de *S. Schwarzengrund*.**

En *S. Typhimurium* se seleccionaron 2 cepas aisladas en diferentes categorías M4 y M8 de la misma granja (G10). Los perfiles genéticos de los dos aislamientos por PFGE-*BlnI* fueron iguales (Figura 29).

Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
PFGE-E PFGE-BlnI

Cepa Nº	Lugar de aislamiento	Muestra	Serovariedad	Perfil de PFGE
STM1941/08	Buenos Aires San Andres de Giles	Stool	Typhimurium	ARJPA26.0017
STM1944/08	Buenos Aires San Andres de Giles	Stool	Typhimurium	ARJPA26.0017

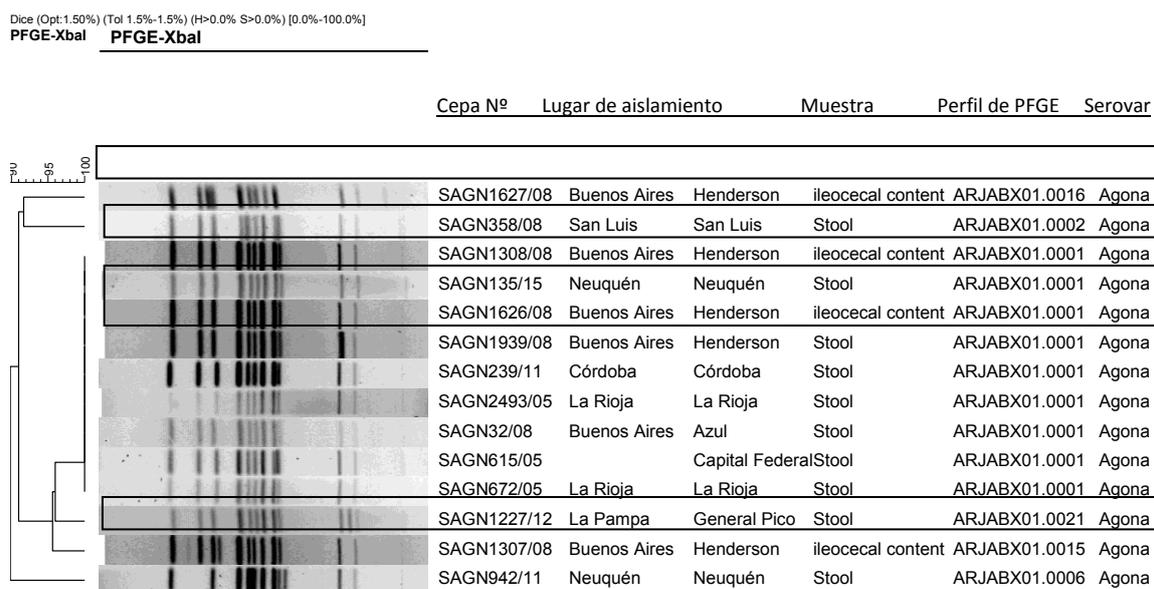
**Figura 29. Dendograma de los perfiles genéticos de PFGE-*BlnI* de la selección de 2 aislamientos de *S. Typhimurium*.**

### **3.5 DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN GENÉTICA ENTRE LOS AISLAMIENTOS DE ORIGEN PORCINO Y LOS AISLAMIENTOS HUMANOS CIRCULANTES EN EL PAÍS.**

Los perfiles genéticos obtenidos por PFGE-*XbaI* de las serovariedades de *Salmonella enterica* fueron comparados con los correspondientes aislamientos de origen humano, que se encuentran en la BDN de Subtipos Genéticos de *Salmonella* (Figuras 30 - 39).

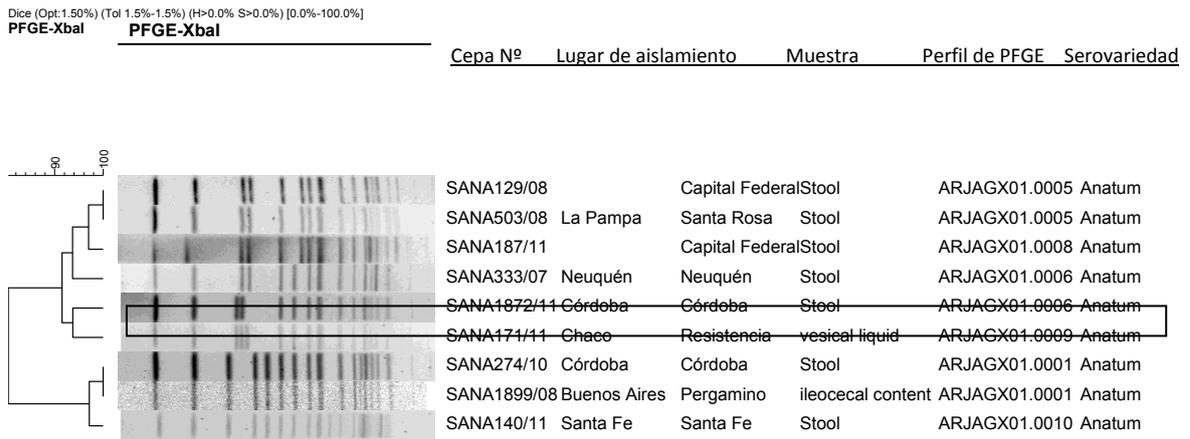
Uno o más aislamientos de las serovariedades de *S. Anatum*, *S. Agona*, *S. Derby*, *S. Newport*, *S. subsp. I (6,8:e,h:-)* y *S. Typhimurium* presentaron perfiles genéticos iguales a los patrones de PFGE identificados en 1 o más aislamientos de su respectiva serovariedad, de origen humano. A continuación se detallan cuáles fueron los aislamientos que coincidieron con cepas de origen humano.

La cepa de *S. Agona* 1939/08 aislada en granja (G6) y 2 cepas (1308/08 y 1626/08) aisladas en frigorífico de la misma granja tuvieron el mismo perfil genético que 6 cepas de *S. Agona* de origen humano, correspondientes a casos de gastroenteritis registrados en Neuquén (2015), Córdoba (2011), La Rioja (n=2) (2005), Azul (2008) y Capital Federal (2005). Las cepas 1627/08 y 1307/08 aisladas de LN de G9 fueron identificadas con diferentes patrones genéticos que el cluster pero la cepa 1307/08 estuvo altamente relacionada (Coef. Dice 96%, una banda de diferencia) con el cluster y la cepa 1627/08 mostró una alta relación genética (Coef. Dice 92%, dos bandas de diferencia) con una cepa aislada de un caso de gastroenteritis en humano en San Luis (Figura 30).



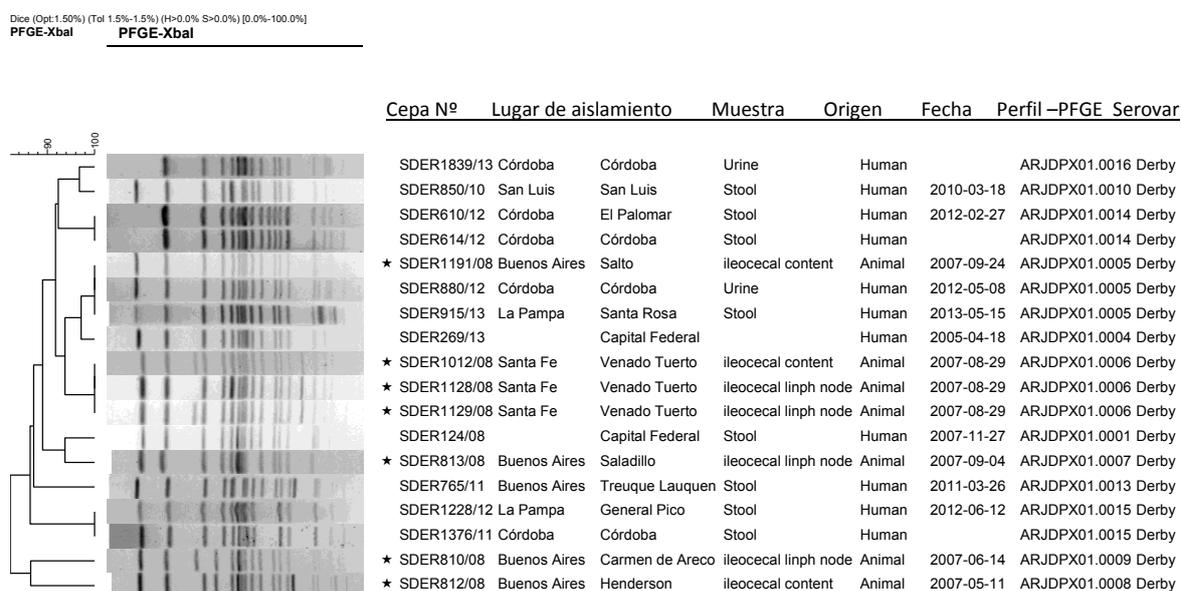
**Figura 30. Dendrograma de PFGE-XbaI indicando la relación genética entre *S. Agona* de origen porcino 1308/08, 1626/08, 1939/08, 1307/08 y 1627/08 (enmarcadas en un rectángulo) y 9 cepas de origen humano.**

La cepa de *S. Anatum* 1899/08 aislada de CC de G4 (Pergamino) (2007), tuvo el mismo perfil genético que una cepa de origen humano aislada de un caso de gastroenteritis en la provincia de Córdoba (2010) (Figura 31).



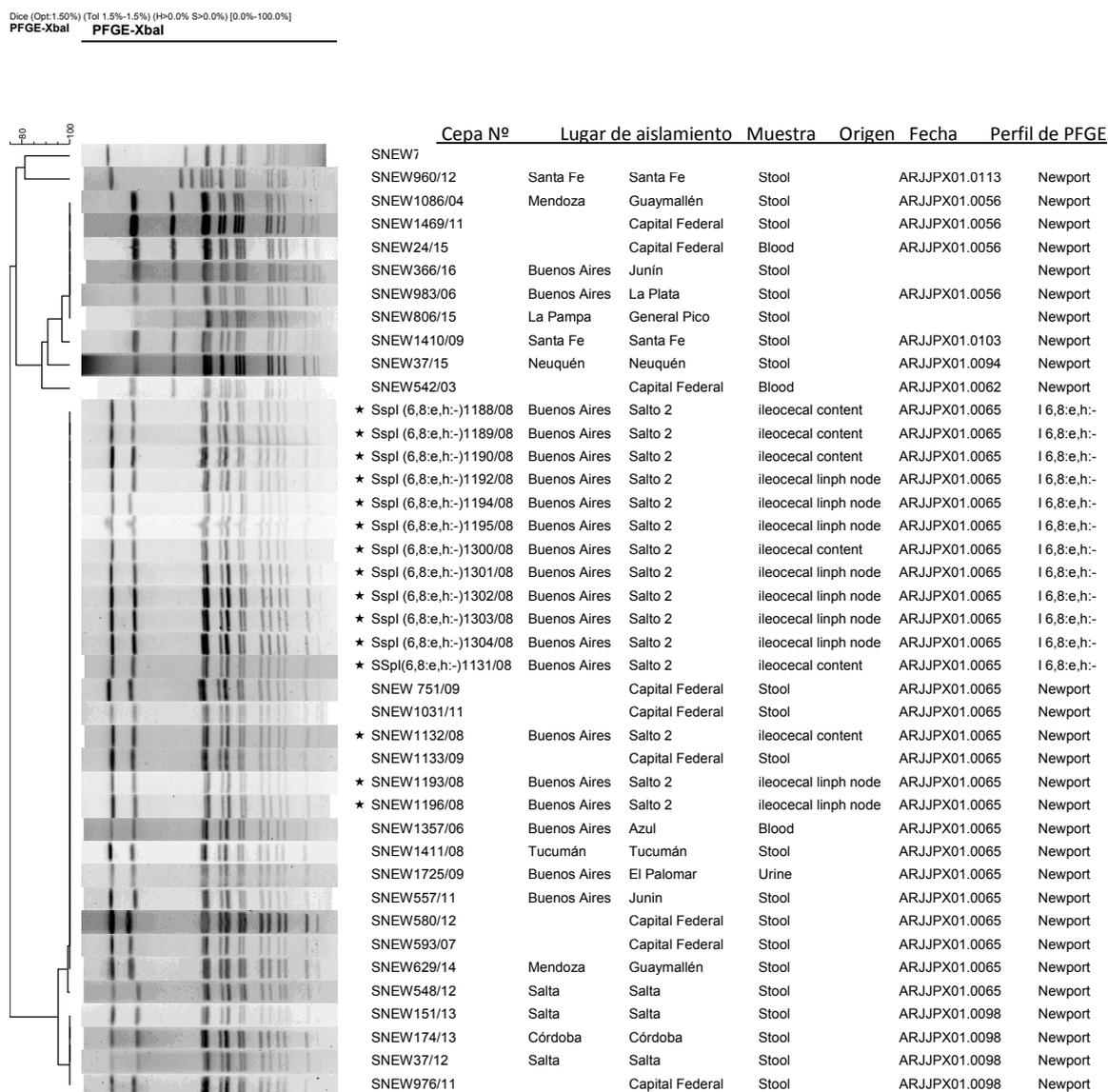
**Figura 31. Dendrograma de PFGE-XbaI indicando la relación genética entre *S. Anatum* 1899/08 (enmarcada en un rectángulo) y 8 aislamientos de origen humano.**

La cepa de *S. Derby* 1191/08 aislada de CC de G2 tuvo el mismo perfil que dos cepas aisladas de origen humano, una de Córdoba de un caso de infección urinaria (2012) y la otra de La Pampa de un caso de gastroenteritis (2013). Los restantes aislamientos de *S. Derby* de este estudio no presentaron el mismo perfil genético que los de origen humano (Figura 32).



**Figura 32. Dendograma de PFGE-XbaI indicando la relación genética entre *S. Derby* 1191/08, 1012/08, 1128/08, 1129/08, 813/08, 810/08 y 812/08 (\*) y 11 cepas de origen humano.**

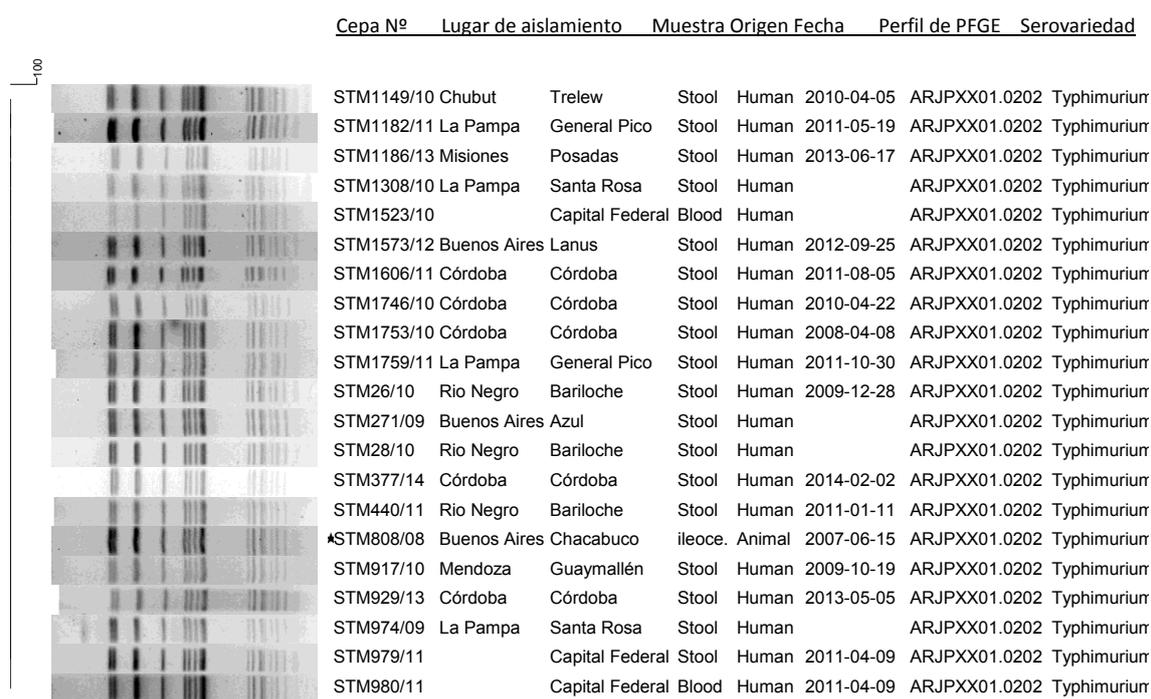
El patrón genético obtenido en *S. Newport* y *S. subsp. I* (6,8:e,h:-) (ARJJPX01.0065), coincidió con el patrón genético de 68 aislamientos de origen humano aislados entre los años 2001 y 2014, todos de casos de gastroenteritis, excepto una cepa que fue aislada de infección urinaria, provenientes de distintas provincias de Argentina. (Figura 33).



**Figura 33. Dendrograma de PFGE-XbaI indicando la relación genética entre 3 cepas de *S. Newport* (\*), 12 cepas de *S. subsp. I* (6,8:e,h:-) (\*) y 68 cepas de *S. Newport* de origen humano.**

La cepa de *S. Typhimurium* 808/08, aislada de LN de granja G5, mostró el mismo patrón genético (ARJPXX01.0202) que 20 aislamientos de origen humano que se aislaron entre los años 2008 y 2014 en diferentes provincias (Figura 34).

Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
PFGE: PFGE-XbaI



**Figura 34. Dendrograma de PFGE-XbaI indicando la relación genética entre *S. Typhimurium* 808/08 (\*) y 20 aislamientos de origen humano.**

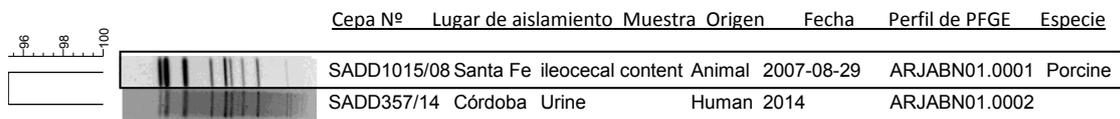
El patrón genético (ARJPXX01.0177) de la cepa de *S. Typhimurium* 1626/08 coincidió con el de una cepa de aislada de MF de un caso de gastroenteritis en humano (Figura 35).



**Figura 35. Dendograma de PFGE-*XbaI* indicando la relación genética entre *S. Typhimurium* 1628/08 (\*) y un aislamiento de origen humano.**

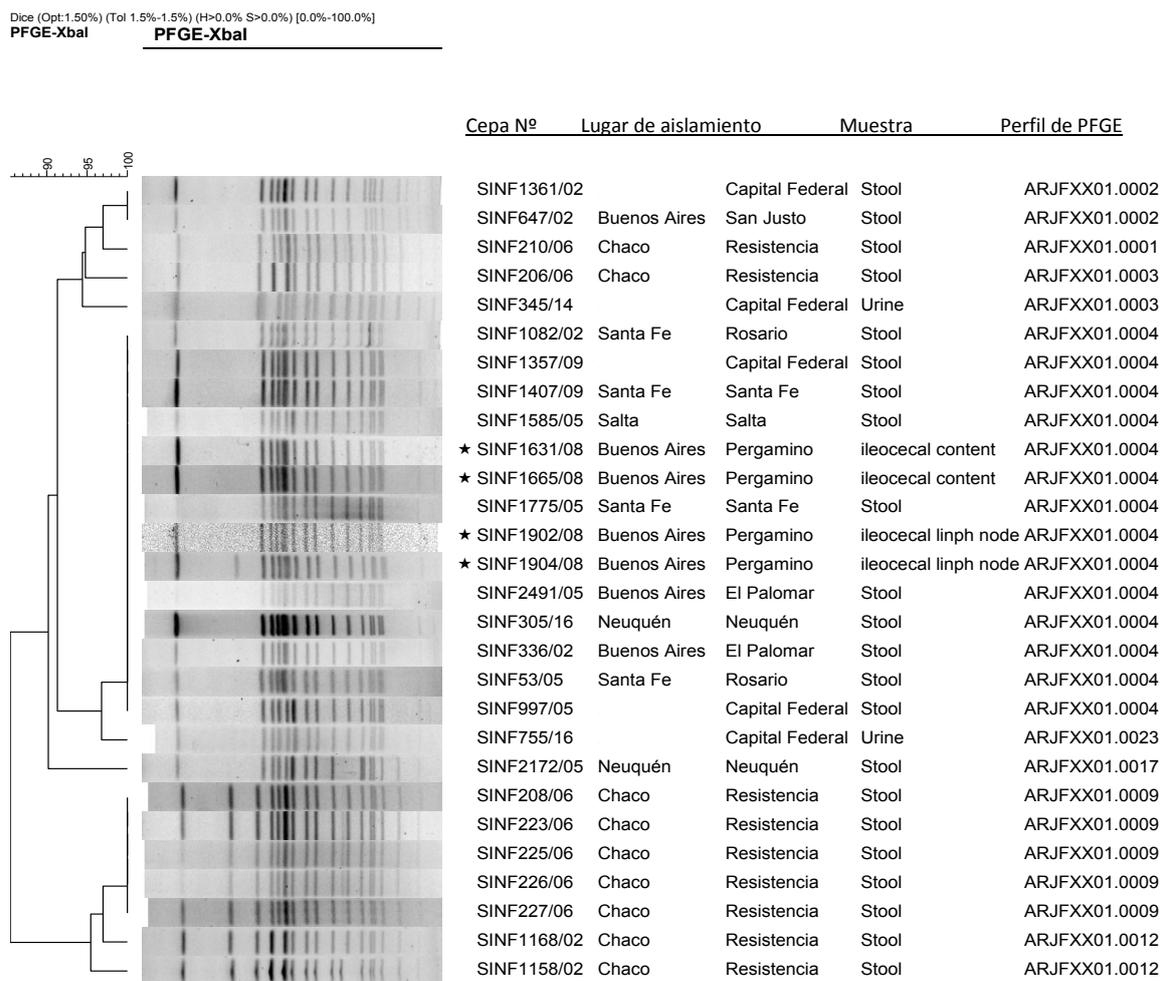
La cepa *S. Adelaide* 1015/08 presentó un perfil genético similar al de un aislamiento de origen humano que se recuperó de un caso de infección urinaria en la provincia de Córdoba, con una alta relación genética (Coef. Dice 95%, una banda de diferencia) (Figura 36).

Dice (Opt:1.50%) (Tol 1.5%-1.5%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]  
 PFGE-XbaI PFGE-XbaI



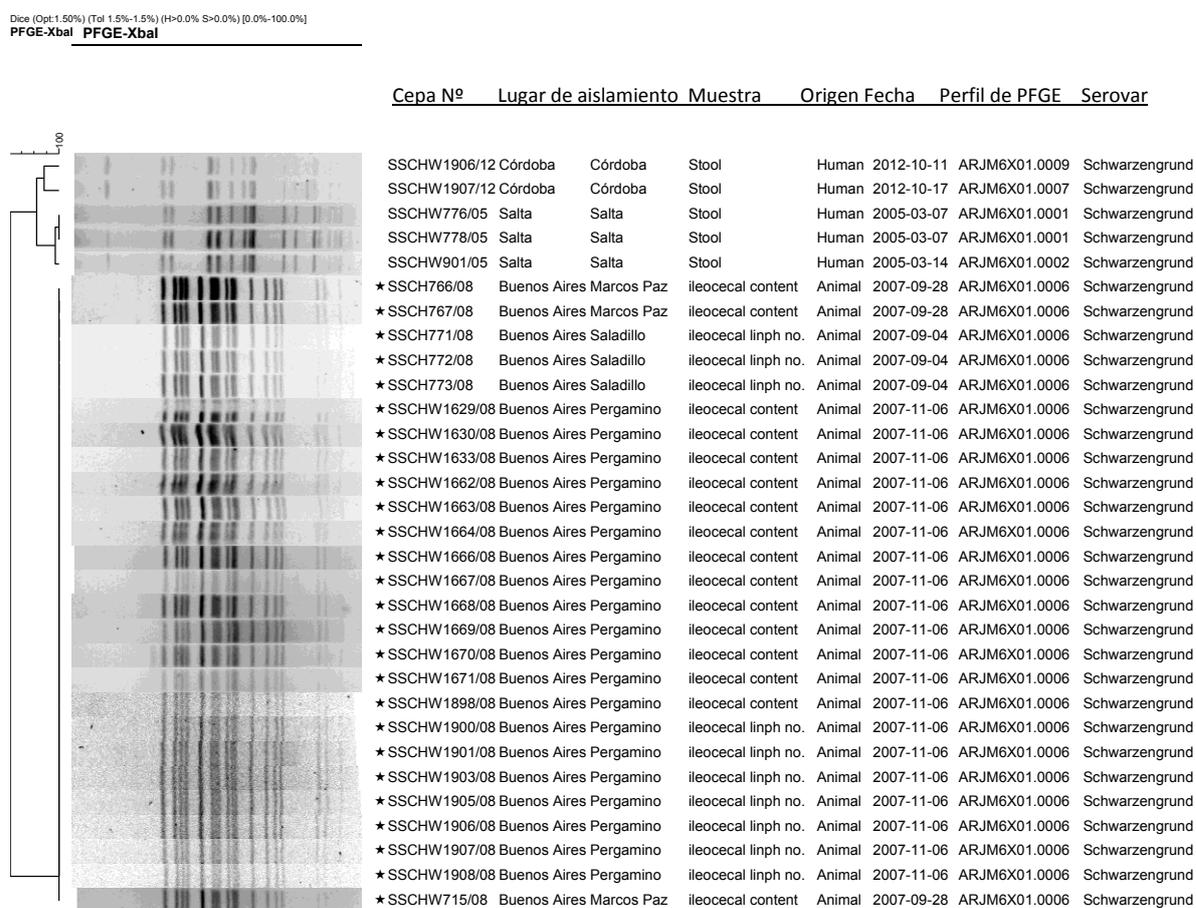
**Figura 36. Dendrograma de PFGE-XbaI indicando la relación genética entre *S. Adelaide* 1015/08 (enmarcada en un rectángulo) y un aislamiento de origen humano.**

El patrón genético (ARJFXX01.0004) del cluster de *S. Infantis* coincidió con 16 cepas de *S. Infantis* aisladas de casos de gastroenteritis en humanos obtenidos entre los años 2004 y 2016. (Figura 37).



**Figura 37. Dendrograma de PFGE-*Xba*I indicando la relación genética entre 4 cepas de *S. Infantis* 1631/08, 1665/08, 1902/08 y 1904/08 (\*) y 24 aislamientos de origen humano.**

Los patrones genéticos de las cepas aisladas en este estudio de las serovariedades *S. Schwarzengrund* (Figura 38) y *S. Seftenberg* (Figura 39) no coincidieron con el patrón genético de ningún aislamiento de su respectiva serovariedad de origen humano. En el cluster de *S. Schwarzengrund* con 7 bandas de diferencia y en las cepas de *S. Seftenberg* 1306/08 y 1945/08 con 3 y 4 bandas de diferencia respectivamente.

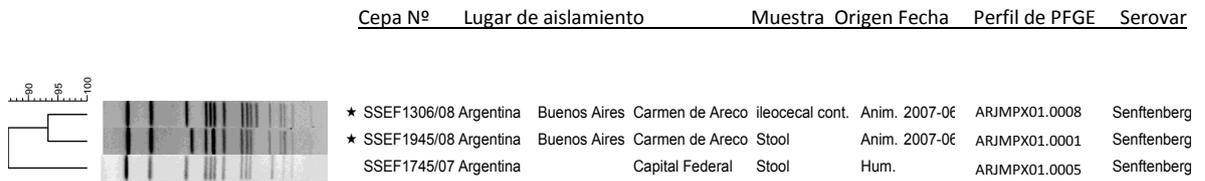


**Figura 38. Dendrograma de PFGE-XbaI indicando la relación genética entre 26 cepas de *S. Schwarzengrund* (\*) y 5 aislamientos de origen humano.**

Dise (Opt:1.50%) (Tot:1.5%-1.5%) (H&gt;0.0% S&gt;0.0%) [0.0%-100.0%]

PFGE-XbaI

PFGE-XbaI



**Figura 39. Dendrograma de PFGE-*XbaI* indicando la relación genética entre 2 cepas de *S. Seftenberg* (\*) y un aislamiento de origen humano.**

Los aislamientos de las serovariedades *S. Heidelberg*, *S. Bredeney*, *S. Orion*, *S. Rissen* y *S. Tennessee* de nuestro estudio tampoco mostraron perfiles genéticos concordantes con los identificados en la BDN de su respectiva serovariedad y origen humano (Resultados no mostrados).

## 4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

### 4.1 PREVALENCIA DE *SALMONELLA* EN CERDOS EN GRANJAS Y FRIGORÍFICOS

En nuestro estudio epidemiológico, por el método bacteriológico, el porcentaje de granjas positivas a *Salmonella* fue del 33% (prevalencia intergranjas) y la prevalencia de *Salmonella* en granjas fue del 4%, calculada según el número de aislamientos obtenidos sobre el total de muestras recolectadas en el estudio.

En EEUU y España, se observó que la prevalencia de *Salmonella* en granjas y frigoríficos es muy variable aún con muestras obtenidas de los mismos animales con el mismo método utilizado por nosotros (García-Feliz *et al.*, 2007; Williams y Newell, 1967). En EEUU, en un estudio realizado en granjas y frigoríficos se observó una prevalencia de *Salmonella* en cerdos que fueron faenados en el frigorífico del 39,9%, la cual fue mucho mayor comparada con la obtenida en cerdos que fueron faenados en granja (5,3%) (Hurd *et al.*, 2002).

En América del Norte, numerosos estudios demuestran que la prevalencia de *Salmonella* en granjas porcinas de un mismo país puede ser muy variable. En Canadá, los estudios realizados en 41 y 90 granjas la prevalencia de *Salmonella* intergranjas expresó diferentes porcentajes, 26,8%, 51,7% y 66% respectivamente (Farzan *et al.*, 2008; Rajic *et al.*, 2001; Rajic *et al.*, 2004). En EEUU, un estudio reveló que la prevalencia intergranjas abarcó un rango de 38,2 - 83% (Davies *et al.*, 1997), mientras que otros autores hallaron una prevalencia intergranjas del 38% y una prevalencia de

*Salmonella* del 6% (Fedorka-Cray *et al.*, 1995), coincidiendo con un estudio más actual de un monitoreo de *Salmonella* realizado en granjas porcinas localizadas en 17 estados diferentes, que encontró una prevalencia de *Salmonella* del 7,2% (USDA-APHIS, 2009).

Asimismo, en Europa se encuentra una prevalencia de *Salmonella* en granjas muy variable. En España, García-Feliz *et al.* reportaron una prevalencia de *Salmonella* del 12,5% e intergranjas del 43,1% (García-Feliz *et al.*, 2007). Sin embargo, en Holanda, la prevalencia de *Salmonella* intergranjas fue del 23% (Van de Wolf *et al.*, 1999); y en Dinamarca, Christensen *et al.* describieron una prevalencia intergranjas del 11,4%, la que fue lograda por la implementación de un "Programa de Control de *Salmonella*" durante 4 años (Christensen *et al.*, 2002).

Nuestros resultados son equiparables a los obtenidos en Brasil, en un estudio similar. En el mismo, presentaron una prevalencia intergranjas del 33%, en el cual 3 de las 10 granjas en estudio resultaron positivas a *Salmonella* (Weiss *et al.*, 2002). En Chile, se observó una prevalencia de *Salmonella* intergranjas del 41,4%, pues 12 de 29 granjas fueron positivas a *Salmonella* (Villamil *et al.*, 2012).

Comparando con otro trabajo realizado en granjas porcinas de Argentina, Parada *et al.* obtuvieron una mayor prevalencia intergranjas (42,3%) en 52 granjas de diferentes provincias (Parada, 2014).

Varios estudios demostraron que la amplia variación en la prevalencia de *Salmonella* en una misma granja, podría deberse a diferentes factores tales como ubicación geográfica,

tamaño y tipo de la muestra, así como también a la técnica de cultivo y a la baja sensibilidad de los métodos bacteriológicos respecto de otros métodos diagnósticos (Baggesen *et al.*, 1993; Davies *et al.*, 2000; Funk *et al.*, 2000; Rajic *et al.*, 2004). También, la época del año tendría un rol importante en la epidemiología de la infección, en los meses cálidos aumentan los vectores (roedores, insectos y aves) que influyen en la introducción de la infección en las granjas (Funk *et al.*, 2004; Fosse *et al.*, 2009; Vico *et al.*, 2011; Vico *et al.*, 2014). Con respecto al tipo de muestra, Arnold *et al.*, afirman que la sensibilidad del método bacteriológico aumenta con el número de muestras y con la colecta de "pools" de MF es mayor que con la toma de muestras individuales (Arnold *et al.*, 2006).

Otro de los factores que puede influir en la prevalencia que se obtiene de *Salmonella* es la baja cantidad de bacterias que los cerdos con infección subclínica pueden eliminar en forma intermitente (Davies *et al.*, 2000; Oliveira *et al.*, 2002). Por lo tanto, la comparación de los resultados de prevalencia de *Salmonella* obtenidos por los diferentes estudios a nivel mundial, en función de las variables enunciadas, deben ser analizados con cautela.

Para determinar la prevalencia de *Salmonella* en frigoríficos se requiere un muestreo más completo del animal faenado, ya que de rutina los métodos de inspección de la carne en el frigorífico no determinan la presencia de *Salmonella* en tonsilas, tracto intestinal y nódulos linfáticos mesentéricos o ileocecales (Hurd *et al.*, 2002).

Así como en las granjas la prevalencia varía con algunos factores (ubicación geográfica, época del año, tamaño y tipo de la muestra, etc.), en los frigoríficos la afectan otras

variables. Así, mayores distancias hasta el frigorífico y prolongados tiempos de espera antes del sacrificio, se asociaron significativamente a mayor prevalencia; esto puede deberse a que las situaciones de estrés para los cerdos aumentan el riesgo de excreción y transmisión de *Salmonella* spp. (Callaway *et al.*, 2006). Posteriormente, la diseminación de *Salmonella* a través de las heces, contribuye a la contaminación de las carcasas, del instrumental y ambiente del frigorífico (Hurd *et al.*, 2002).

En nuestro estudio, se halló una prevalencia de *Salmonella* en frigoríficos del 24%, correspondiendo el 13,5% a CC y el 10,5% a LN.

En países de América del Norte, tales como Canadá se encontró una prevalencia de *Salmonella* del 17,7%, correspondiendo el 12,5% a CC y el 5,2% a LN muestreados (Mainar-Jaime *et al.*, 2008).

En Europa, en un estudio realizado en 24 Estados miembros de la UE se encontró una prevalencia de *Salmonella* muy variable (0 - 29%) a partir de LN de cerdos de faena (EFSA, 2008). En Alemania, se halló una prevalencia de *Salmonella* en cerdos faenados del 13,8%, hallándose el 46,4% de los aislamientos en CC y el 25,1% en LN (Methner *et al.*, 2010).

La baja prevalencia de *Salmonella* observada en algunos frigoríficos de Norte América (Funk y Gebreyes, 2004), Dinamarca y otros países de la Unión Europea (Lo Fo Wong *et al.*, 2002; Wegener *et al.*, 2003) se debe a la implementación de programas de control de *Salmonella* spp. en granjas y frigoríficos, con el fin de disminuir la exposición de los humanos a *Salmonella*.

En contraste con los trabajos anteriores, en Etiopía, Molla B *et al.* hallaron mayor porcentaje de aislamiento en LN (41,6%) que en CC (16,8%) (Molla B *et al.*, 2006).

En varios trabajos de la Argentina, se observó una prevalencia de *Salmonella* en cerdos de faena con resultados variables.

En la provincia de Córdoba, a partir de un muestreo de nódulos linfáticos mesentéricos en un frigorífico, la prevalencia de *Salmonella* fue del 45% en cerdos que pertenecían a 15 granjas diferentes de esa provincia (Vico *et al.*, 2014). Según Parada *et al.* la prevalencia en cerdos a partir de LN fue del 18,6% (Parada *et al.*, 2013). Por otro lado, Vigo *et al.*, hallaron una prevalencia del 65% en LN y CC de cerdos faenados provenientes de una granja con presentación clínica de la infección (Vigo *et al.*, 2006).

Se ha indicado en numerosas investigaciones que para determinar la prevalencia de *Salmonella* en frigoríficos se debe tomar las muestras del CC (Hurd *et al.*, 2004; Sorensen *et al.*, 2004; Bahnson *et al.*, 2006; Rostagno *et al.*, 2007).

Sin embargo, en otros estudios incluyendo el nuestro, se demostró que recolectando muestras de CC y LN de un mismo animal se obtuvo mayor porcentaje de aislamientos de *Salmonella* (Ibar *et al.*, 2009; Vigo *et al.*, 2006; Mainar-Jaime *et al.*, 2008; Methner *et al.*, 2010; Molla *et al.*, 2006).

Por lo tanto, el estudio bacteriológico por duplicado de CC y LN aumenta la probabilidad de aislamiento de *Salmonella* (Vigo *et al.*, 2006).

La prevalencia de *Salmonella* en las granjas fue menor que la hallada en los cerdos faenados provenientes de esas granjas, este resultado coincide con numerosas investigaciones (Craven y Hurst, 1982; Warris, 1992; Mulder, 1995; Hurd *et al.*, 2004; Fosse *et al.*, 2008).

Varios estudios han demostrado que el porcentaje de aislamiento de *Salmonella* en frigorífico no necesariamente refleja la prevalencia en granja, ya que la infección puede producirse durante el transporte y en los corrales de espera del frigorífico (Fravalo *et al.*, 1999; Hurd *et al.*, 2002). Se confirma esta teoría, porque se ha demostrado que *Salmonella* puede ser aislada de CC de cerdos dentro de las 4 - 6 hs posteriores a la exposición oral a la bacteria (Fedorka-Cray *et al.*, 1995).

## 4.2 SEROVARIEDADES DE *SALMONELLA* SPP. EN GRANJAS Y FRIGORÍFICOS

En las muestras recolectadas de granjas y frigoríficos se identificaron en total 16 serovariedades de *Salmonella*, que indican una gran diversidad probablemente resultado de múltiples fuentes de infección (Baggesen *et al.*, 1996). Las serovariedades aisladas corresponden a las del tipo no tifoideo de *S. enterica*, que son consideradas zoonóticas a nivel mundial (Threlfall, 2002). En la misma granja se identificaron hasta dos serovariedades diferentes, a diferencia de otros autores que en nuestro país hallaron más de dos serovariedades diferentes en la misma granja porcina (Vigo *et al.*, 2006; Parada, 2014), y más aún éstas fueron diferentes a las identificadas en los cerdos en frigoríficos indicando otras fuentes de infección (Vigo *et al.*, 2006).

En este estudio, *S. Typhimurium* fue la serovariedad más prevalente en granjas porcinas, tal como describieron estudios de otros países (Baggesen *et al.*, 1996; Van der Wolf *et al.*, 1999; Rowe *et al.*, 2001; Rajic *et al.*, 2004; García-Feliz *et al.*, 2007; Sanchez *et al.*, 2007). La misma serovariedad fue aislada en Argentina a partir de casos clínicos (Cappuccio *et al.*, 2006) y subclínicos (Parada, 2014). Paradójicamente, la granja donde se aislaron las cepas de *S. Typhimurium* no presentó ningún aislamiento de esta serovariedad en frigorífico.

En Argentina, entre los años 2002 y 2005 *S. Typhimurium* fue la segunda serovariedad más prevalente en humanos, la primera fue *S. Enteritidis*, pero en el trienio 2007-2009, *S. Typhimurium* ocupó el primer lugar en el ranking de prevalencia y produjo 2 brotes

de salmonelosis reportados por el Laboratorio de Referencia Nacional (Caffer *et al.*, 2007; Caffer *et al.*, 2010).

Las otras serovariedades que se hallaron en las granjas porcinas fueron, *S. Seftenberg*, *S. Tennessee* y *S. Agona*, no habiéndose identificado en estudios previos en cerdos en nuestro país (Parada, 2014). *Salmonella* Agona ocupó el cuarto y quinto lugar de las serovariedades más prevalentes en humanos en los bienios 2002-2003 y 2004-2005 respectivamente (Caffer *et al.*, 2007). En otros países, *S. Agona* fue la tercer serovariedad más prevalente en cerdos en EEUU (USDA-APHIS, 2009); *S. Tennessee*, fue aislada de granjas porcinas en España (García-Feliz *et al.*, 2007) y en Finlandia (Kuronen *et al.*, 2010); y *S. Seftenberg*, se aisló de casos clínicos de cerdos en EEUU (Pocurull *et al.*, 1971).

Las serovariedades más prevalentes en frigorífico fueron *S. Schwarzengrund*, *S. Heidelberg*, *S. subsp. I (6,8:e,h:-)* (variante monofásica de *S. Newport*), *S. Derby*, *S. Bredeney* y *S. Typhimurium*.

Nuestros datos también coinciden con las serovariedades más prevalentes halladas en frigoríficos de otros países. Según la información descrita en la bibliografía mundial, *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* son las serovariedades que predominan seguidas por *S. Hadar*, *S. Agona*, *S. Infantis* y *S. Newport*, considerados agentes importantes de la enfermedad humana debido al consumo de alimentos contaminados (Khakhria *et al.*, 1997).

En países de América del Norte, tales como Canadá *S. Derby* fue la más prevalente (Mainar-Jaime *et al.*, 2008) y *S. Heidelberg* es una de las tres causas más prevalentes de salmonelosis en humanos (Demczuc *et al.*, 2005). *Salmonella* Heidelberg es una

serovariedad frecuentemente aislada en Canadá y EEUU (WHO, 2005; Aarestrup *et al.*, 2004).

En países de Europa, en Alemania y España, la serovariedad más prevalente en cerdos de faena fue *S. Typhimurium* (Methner *et al.*, 2010; Borge *et al.*, 2010; Vico *et al.*, 2011); y en Polonia, se destacaron *S. Typhimurium*, *S. Derby* y *S. Bredeney* (Zajac *et al.*, 2010).

En un estudio realizado en 24 Estados miembros de la UE, *S. Typhimurium* y *S. Derby*, fueron las serovariedades más prevalentes y también con frecuencia *S. Rissen*, *S. subsp. I* (4,[5],12:i:-) (variante monofásica de *S. Typhimurium*) y *S. Enteritidis*. Estas serovariedades causan frecuentes infecciones de *Salmonella* en los seres humanos en la UE (EFSA, 2008). *Salmonella Rissen*, ha emergido en España desde el año 2000 entre aislamientos de *Salmonella* de humanos (Echeita *et al.*, 2005) y es prevalente en productos porcinos (De Frutos *et al.*, 2005). Asimismo, *S. Derby*, es una serovariedad capaz de establecer una infección persistente en granjas de cerdos (Baggesen *et al.*, 1996), logrando mantenerse en los animales como reservorio y fuente de infección.

En la Argentina, en concordancia con nuestros resultados, se reportó *S. Schwarzengrund* como la más prevalente en LN de cerdos en un frigorífico seguida por *S. Bredeney*, *S. Derby*, *S. Infantis* y *S. Rissen*. También encontraron serovariedades diferentes, tales como *S. Saintpaul*, *S. Bovismorbificans*, *S. Sandiego* y *S. Livingstone* (Parada *et al.*, 2013). Mientras que en otro estudio en frigorífico, reportaron *S. Typhimurium* y *S. Ohio*, como las serovariedades más prevalentes, y también hallaron *S. Seftenberg* y *S.*

Rissen (Vigo *et al.*, 2006). *Salmonella* Heidelberg se ha reportado en otro estudio realizado en este país en granjas de cerdos (Parada, 2014).

A diferencia de los hallazgos de otros trabajos (Vigo *et al.*, 2006; Parada *et al.*, 2013; Parada, 2014) sobre el tema en Argentina, en este trabajo se identificaron serovariedades aún no aisladas en cerdos como *S. Agona*, *S. Tennessee*, *S. Newport*, *S. subsp. I (6,8:e,h:-)* (variante monofásica de *S. Newport*), *S. Orion*, *S. Adelaide* y *S. Subsp. I (1,3,19:-:-)* (variante monofásica de *S. Seftenberg*).

En humanos, según datos del Laboratorio Nacional de Referencia INEI "Carlos G. Malbrán", *S. Newport* fue la tercer serovariedad más prevalente y produjo 2 brotes de salmonelosis en el trienio 2007 - 2009, *S. Agona* fue aislada con mayor frecuencia de alimentos para animales (Caffer *et al.*, 2010) y como se expresó anteriormente fue la cuarta y quinta serovariedad más prevalente en humanos en los bienios 2002 - 2003 y 2004 - 2005 respectivamente. *Salmonella* Heidelberg, se destacó por ser la segunda serovariedad más prevalente en cerdos de faena.

En el año 2004, *S. Heidelberg* produjo un brote en un evento que afectó a 83 personas por el consumo de un alimento en CABA (Caffer *et al.*, 2007). En nuestro estudio también aislamos *S. Infantis* de cerdos de faena, la cual fue identificada como la tercer serovariedad más prevalente en humanos entre los años 2002 y 2005 (Caffer *et al.*, 2007).

La diversidad de serovariedades halladas y su localización se podrían atribuir a que los animales se infectan durante el transporte por el estrés y la deficiente limpieza y

desinfección de los camiones de transporte y de los corrales de espera en el frigorífico (Erdman *et al.*, 2003). Finalmente las carcasas se contaminan con MF en la etapa de evisceración (Berends *et al.*, 1997).

*Salmonella* produce infección en múltiples órganos tales como tonsilas, colon, ciego, nódulo linfático y timo a partir de las 3 horas post-inoculación, tiempo que se considera compatible con el del transporte de los animales al frigorífico y la espera en los corrales antes de la faena (Loynachan *et al.*, 2004).

En algunos animales hallamos diferentes serovariedades de *Salmonella* en las muestras de CC y LN del mismo animal, así como se observó en otro estudio similar (Vigo *et al.*, 2006) en nuestra región. Se comprobó que las serovariedades específicas del hospedador persisten más en los nódulos linfáticos, de importancia para su difusión sistémica (Paulin *et al.*, 2002). Sin embargo en el estudio realizado, las serovariedades identificadas no son especie específicas del cerdo. Esta especie animal puede infectarse por un amplio espectro de serovariedades ya sea en la granja (Parada, 2014, De Busser *et al.*, 2013), o en el frigorífico (Vigo *et al.*, 2006; Ibar *et al.*, 2009) y estas varían según región o país (Letellier *et al.*, 1999; Swaneburg *et al.*, 2001) manteniendo su dominancia por años o emergiendo/re-emergiendo a lo largo del tiempo (Molla *et al.*, 2006).

### 4.3 SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *SALMONELLA* EN GRANJAS Y FRIGORÍFICOS

La emergencia de la resistencia a los ATM se ha convertido en un problema en todo el mundo. La mala utilización de antimicrobianos en medicina humana y veterinaria es una condición para la emergencia y el desarrollo de resistencias. (Errecalde, 2004).

Así como en medicina humana los ATM son usados principalmente en forma terapéutica y sólo ocasionalmente profilácticamente (Usera *et al.*, 2002), en medicina veterinaria los ATM son usados en forma terapéutica, profiláctica, metafiláctica y como promotores de crecimiento (Oliveira *et al.*, 2002). En las granjas estudiadas, uno de los ATM más utilizados en las categorías M6 y M8 fue la TET, y en la etapa M4 fue la AMX. En concordancia con los resultados obtenidos del estudio de sensibilidad antimicrobiana *in vitro* de *Salmonella* provenientes de granjas, se observó resistencia a AMP-TET para *S. Typhimurium* y a TET para *S. Agona*. Asimismo, en EEUU se observó la resistencia de *S. Typhimurium* a AMP y TET, en cepas aisladas de dos granjas con sistema “todo adentro y todo afuera”, pero con diferentes patrones de resistencia AMP-CMP-S-SU-TET y AMP-KAN-S-SU-TET (Gebreyes *et al.*, 2002). Además en casos clínicos de cerdos también se observaron altos porcentajes de resistencia a TET y AMP (Dorothy *et al.*, 1971).

En frigoríficos, el porcentaje de cepas de *Salmonella* resistentes al menos a un ATM fue del 27%. Las cepas MDR, a 4 y 6 ATM representaron el 24% del total de los

aislamientos. En otros países, en cerdos de faena se observaron diferencias en el porcentaje de cepas de *Salmonella* MDR y el número de ATM al que fueron resistentes.

Los registros de la bibliografía muestran que en Canadá hubo resistencia hasta 4 ATM y 44% de cepas MDR (Mainer-Jaime *et al.*, 2008); en países limítrofes como en Brasil se reportó resistencia hasta 6 ATM y 43% de MDR (Kich *et al.*, 2011) y en Chile hasta 7 ATM y 16% de MDR (Junod *et al.*, 2013) y 27% de MDR (Castagna *et al.*, 2001); en países más lejanos como Vietnam se encontró resistencia a 7 o más ATM y 31% de MDR (VoAnTT *et al.*, 2010) y en Etiopía hasta 8 ATM y 73% de MDR (Molla *et al.*, 2006).

En cuanto al comportamiento de las cepas de *Salmonella* aisladas a cada uno de los ATM probados, el de mayor registro fue TET con 26% siguiendo en orden decreciente CMP (24%), S (24%), TMS (22%), AMP (19%), NIT (3%) y NAL (3%). Asimismo, la resistencia de *Salmonella* a TET, CMP, S y AMP en cerdos se reportó en numerosos trabajos de otros países tales como EEUU (Farrington *et al.*, 2001; Gebreyes *et al.*, 2004; USDA, 2009), Canadá (Mainer-Jaime *et al.*, 2008), España (Borge *et al.*, 2010; Agustín *et al.*, 2005; Usera *et al.*, 2002), Brasil (Kich *et al.*, 2011), Vietnam (Huong *et al.*, 2010), Chile (Castagna *et al.*, 2001; Junod *et al.*, 2013) y Etiopía (Molla *et al.*, 2006).

Nuestros porcentajes fueron bajos comparados con los reportados por el monitoreo de resistencia antimicrobiana de USDA-NAHMS realizado en EEUU en los años 1995, 2000 y 2006 (USDA, 2009) a saber TET (79%), S (53%), AMP (39%) y CMP (33%).

Sin embargo, en nuestro estudio TMS (22%) presentó un porcentaje más alto que en el informe de monitoreo de EEUU (8%) (USDA, 2009). Por otro lado, otros autores concordaron en la resistencia a TMS (Mainer-Jaime *et al.*, 2008; Michael *et al.*, 2006; Junod *et al.*, 2013; Huong *et al.*, 2010). En Brasil, se observó también resistencia a TET-CMP (Michael *et al.*, 2006; Michael *et al.*, 2008), y en otro trabajo se reportaron porcentajes similares al estudio de EEUU mencionado anteriormente, en TET, AMP y TMS, pero los porcentajes de S fueron menores (35%) y hubo elevada resistencia a los aminoglucósidos tales como KAN (41%) y GEN (39%) (Kich *et al.*, 2011), en contraste con nuestros aislamientos que fueron sensibles a todos los aminoglucósidos probados (GEN y AKN).

La resistencia a NIT fue baja pero se observó un alto porcentaje de cepas con sensibilidad intermedia. Este ATM es utilizado para infecciones urinarias humanas, indicando el alerta de la emergencia de resistencia a NIT. Únicamente se hallaron datos de uso de NIT en un estudio de Etiopía en cerdos de faena con un alto porcentaje de resistencia (Molla *et al.*, 2006).

Una de las particularidades encontradas, fue la presencia de resistencia a NAL en el 3% de las cepas pero ausencia de resistencia a fluoroquinolonas (FQ). Asimismo, otros autores en Chile, Brasil y Vietnam concordaron con bajo porcentaje de resistencia a NAL (Castagna *et al.*, 2001; Kich *et al.*, 2011; VoAnTT *et al.*, 2010), mientras que en EEUU no hallaron resistencia a NAL ni tampoco a CIP (USDA, 2009). La utilización del NAL en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana de laboratorio en *Salmonella* predice la futura resistencia a FQ. Así pues, es importante esta predicción, ya que según

la CLSI, las cepas de *Salmonella* sensibles a las FQ y resistentes a NAL podrían estar asociadas con fracaso clínico o retraso en la respuesta al tratamiento con FQ en pacientes humanos con salmonelosis extraintestinal (CLSI, 2013).

No se halló resistencia a las cefalosporinas de primera y tercera generación, CEF y CTX respectivamente, resultados que difieren con los de Italia, donde se reportó resistencia a CAZ y CTX (Gradassi *et al.*, 2010).

Los ATM probados en la bibliografía consultada fueron en muchos casos diferentes a los probados en este estudio, y por lo tanto a muchos de los patrones de resistencia que obtuvieron. Por esta razón si bien la multirresistencia no se pudo correlacionar, hubo coincidencias con los resultados de algunos ATM en particular.

Si correlacionamos las serovariedades halladas con el comportamiento a los ATM, las serovariedades implicadas con multirresistencia a 4 o más clases de ATM fueron *S. Typhimurium*, *S. Derby*, *S. Heidelberg* y *S. Orion*. Estas serovariedades, excepto *S. Orion*, han sido reportadas como MDR por otros autores (Ahmed *et al.*, 2009; Agustín *et al.*, 2005; Gebreyes *et al.*, 2002; Usera *et al.*, 2002; Huong *et al.*, 2010; Foley y Lynne, 2008; Erdman *et al.*, 2003; Junod *et al.*, 2013).

*Salmonella Typhimurium*, fue aislada de LN y CC de cerdos de faena provenientes de 3 granjas distintas. Todas las cepas fueron resistentes a TET y MDR a 5 y/o 6 ATM.

Asimismo, en muchos países, *S. Typhimurium* se reporta como una de las serovariedades MDR más prevalentes. Así lo informan los registros de EEUU (Erdman *et al.*, 2003; Gebreyes *et al.*, 2002), España (Agustín *et al.*, 2005; Usera *et al.*, 2002; Borge *et al.*, 2010), Brasil (Kich *et al.*, 2011), Chile (Junod *et al.*, 2013) y Vietnam (Huong *et al.*, 2010). Los aislamientos de *S. Typhimurium* de frigorífico presentaron 4 patrones de resistencia diferentes: TET, TET-S, TET-S-NAL-CMP-TMS-NIT y TET-S-NAL-CMP-TMS, las cepas que tuvieron este último patrón presentaron sensibilidad intermedia a NIT. Como se puede observar en los patrones obtenidos, en las cepas de *S. Typhimurium* aisladas de cerdos de faena no hubo resistencia a AMP. Sin embargo, en EEUU, en cerdos de faena *S. Typhimurium* presentó 3 patrones diferentes de resistencia y en todos estuvo involucrada la AMP (Erdman *et al.*, 2003).

En aislamientos de *S. Typhimurium* MDR existe un patrón de pentarresistencia definido AMP-CMP-S-SU-TET asociado al fagotipo DT 104 (Gebreyes *et al.*, 2002), el cual es considerado como el mayor agente causal de salmonelosis en humanos y animales a nivel mundial (Ahmed *et al.*, 2009; Agustín *et al.*, 2005; Gebreyes *et al.*, 2002; Usera *et al.*, 2002). *Salmonella Typhimurium* DT 104 MDR fue identificada inicialmente en Reino Unido (Threlfall *et al.*, 1994) y en diversas partes del mundo (Ahmed *et al.*, 2009; Agustín *et al.*, 2005; Gebreyes *et al.*, 2002; Usera *et al.*, 2002), de varias especies animales, mascotas (Wall *et al.*, 1996; Wells *et al.*, 2001) y productos alimenticios de origen animal (White *et al.*, 2001). Este patrón de resistencia no fue hallado entre las cepas de *S. Typhimurium* de granjas y frigoríficos. Cabe destacar que se ha ampliado el patrón de resistencia de *S. Typhimurium* DT 104, y se encontró esta cepa con resistencia a TRI y CIP (Threlfall *et al.*, 1997).

Comparando con datos reportados en nuestro país, hay registros de *S. Typhimurium* en cerdos de faena, con multirresistencia de 4 a 6 ATM expresando diferentes patrones de resistencia en (AKN-S-TET-NAL-COL-CMP, AMP-GEN-S-NAL-CMP y S-NAL-CMP-NIT) (Vigo *et al.*, 2006).

*Salmonella Heidelberg*, fue una de las serovariedades prevalentes aisladas en este trabajo a partir LN y CC de cerdos de faena provenientes de la misma granja. EEUU y Canadá son dos países en los cuales *S. Heidelberg* es una de las 5 serovariedades más asociadas con salmonelosis en humanos y de las más comúnmente aisladas en cerdos (Foley y Lynne, 2008). En cambio, en países Europeos no se reporta con frecuencia esta serovariedad (Andrysiak *et al.*, 2008). Todas las cepas de *S. Heidelberg* de este estudio presentaron un perfil de MDR con un patrón que abarcó a 5 ATM, a saber AMP-TET-S-CMP-TMS. Otros autores también observaron multirresistencia en *S. Heidelberg*. En EEUU, se encontraron 4 patrones de resistencia diferentes en *S. Heidelberg* MDR que no se asemejan a los nuestros (Erdman *et al.*, 2003); en otros trabajos de este país, presentó 14 patrones de resistencia diferentes, uno de los más prevalentes fue CMP-TET-TIO-FOX-AMP-AMC-GEN-KAN-S-SU-TMS (Lynne *et al.*, 2009). Este patrón reportado por Lynne *et al.*, fue el más similar al nuestro ya que presentó resistencia a los mismos 5 ATM que nuestras cepas pero en contraste fueron resistentes a GEN y a otros ATM que no fueron probados en nuestro estudio. En carne de cerdo se detectó resistencia de *S. Heidelberg* a TET y SU (Zhao *et al.*, 2008). En Canadá, en cepas aisladas de casos clínicos de cerdos *S. Heidelberg* fue MDR presentando el patrón AMP-AMC-CEF-FOX-TIO (Andrysiak *et al.*, 2008).

Salmonella Derby fue una de las serovariedades que se aisló de cerdos de faena provenientes de 5 granjas diferentes y se encontró en los 4 frigoríficos de este estudio. *Salmonella Derby* presentó 2 patrones de resistencia, el primero solo a la AMP y el segundo a 4 ATM clasificándola como una serovariedad MDR con un patrón definido AMP-TET-S-CMP. En Canadá, *S. Derby* fue la serovariedad MDR más prevalente en cerdos de faena con dos patrones similares AMP-TET-S-CMP y AMP-TET-S-CMP-TMS; otras serovariedades resistentes fueron *S. California*, *S. Agona*, *S. Schwarzengrund*, *S. Enteritidis* y *S. Give* (Mainer-Jaime *et al.*, 2008). En Chile, se destacó *S. Derby* con un patrón de resistencia diferente TMS-TET-CEF y fue una de las serovariedades con más cantidad de aislamientos resistentes (Junod *et al.*, 2013). Asimismo, en Vietnam, *S. Derby* fue la serovariedad MDR más prevalente en cerdos (Huong *et al.*, 2010).

Salmonella Orion fue aislada de CC de cerdos provenientes de la misma granja y presentaron el mismo patrón de resistencia TET-S-CMP-TMS, demostrando ser MDR. Solo se encontró un reporte en EEUU de *S. Orion* en cerdos, pollos y gansos, pero no hubo aislamientos MDR (Pocurull *et al.*, 1971).

No hubo aislamientos de *S. Bredeney* resistentes pero se aisló una cepa con sensibilidad intermedia a CEF y AMP. En Brasil, en cambio se aislaron *S. Bredeney* MDR, presentando resistencia a SU, TET, CMP, S, KAN y/o AMP (Michael *et al.*, 2008).

*Salmonella Agona* presentó resistencia a TET en cerdos de la etapa M6 de granja pero las cepas de frigorífico fueron sensibles a todos los ATM probados. En Brasil, se encontraron cepas de *S. Agona* resistentes a TET, CMP y TMS (Michael *et al.*, 2006).

En nuestro país se reportaron otras serovariedades, distintas a las encontradas en nuestro estudio, *Salmonella* (3,10:e,h:-), *S. Muenster* y *S. Bovismorbificans*, aisladas en una granja con infección subclínica, las cuales, en concordancia, presentaron resistencia a TET, NIT, NAL y CMP (Vigo *et al.*, 2009).

Por los resultados obtenidos, hemos encontrado una correlación entre los ATM más utilizados en las granjas, TET y AMP, y los altos porcentajes de resistencia a estos dos ATM. Asimismo, otros autores, destacan una correlación entre los porcentajes de resistencia observados a los ATM de uso corriente en medicina veterinaria y en la explotación porcina (Molla *et al.*, 2006). El uso de FFC en las granjas explicaría el alto porcentaje de resistencia a CMP. El uso de las FQ, favorecería la emergencia de la resistencia a estos ATM, la cual podemos detectar tempranamente con la prueba de sensibilidad al NAL. No se han detectado resistencia a los aminoglucósidos, GEN y AKN, pero tampoco obtuvimos registros de su utilización en los establecimientos involucrados en este estudio, sólo se observó en una granja el uso de NEO, pero el mismo no fue probado en nuestra investigación. Lo mismo ocurre con otros ATM utilizados en las granjas, como TIL, LIN, CAR, AIV, ESP, que no se han probado en la pruebas de sensibilidad de nuestro estudio y por lo tanto no sabemos si hay o no resistencia. La FOS fue usada en una granja pero no encontramos cepas de *Salmonella*

resistentes a este ATM. La PEN, un ATM comúnmente utilizado en las granjas no se probó en las cepas de *Salmonella* porque no corresponde para bacterias Gram-negativas.

Seguramente se podría entender mejor los resultados obtenidos si la información brindada por las granjas hubiera sido más completa, más aún por el modo de uso de los ATM, el cual muchas veces se usa de forma profiláctica y los tiempos de exposición a los ATM son continuos hasta el momento de la venta, para evitar pérdidas económicas.

Los resultados de este estudio con respecto a la resistencia ATM, tiene importantes implicancias para la Salud Pública. Uno de los más relevantes es el aislamiento de *S. Typhimurium* y *S. Heidelberg* MDR en cerdos faenados, las cuales son serovariedades que ocasionan frecuentes brotes de salmonelosis en humanos (Caffer *et al.*, 2007). Estos datos marcan la magnitud del problema planteado y demuestran la necesidad de instrumentar nuevas estrategias en el manejo de los ATM tanto para la salud humana como veterinaria, dentro del concepto holístico de “Una Salud”.

Comprobamos que existen múltiples serovariedades de *Salmonella* circulando principalmente en los cerdos de faena de nuestra región, con altos porcentajes de resistencia y multirresistencia a los ATM de uso común en medicina veterinaria y humana, las cuales son una potencial fuente de infección de infecciones de salmonelosis resistentes y MDR en humanos en nuestro país.

#### **4.4 RELACIÓN GENÉTICA ENTRE LOS PERFILES GENÉTICOS DE LAS CEPAS DE *SALMONELLA* DE GRANJAS Y FRIGORÍFICOS Y LOS SUBTIPOS GENÉTICOS DE *SALMONELLA* DE ORIGEN HUMANO Y DE OTROS ORÍGENES HALLADOS EN LA BASE DE DATOS NACIONAL (BDN)**

El estudio de los perfiles genéticos o pulsotipos por PFGE-*XbaI* permitió identificar una gran diversidad de subtipos genéticos entre las serovariedades de *Salmonella* analizadas. En total se obtuvieron 30 perfiles genéticos diferentes entre los 101 aislamientos de *Salmonella* de granjas y frigoríficos. En granjas, los subtipos genéticos de *S. Typhimurium* que circularon en la etapa M6 difirieron de aquellos en cerdos de M8, coincidiendo con otros autores que encontraron en esas categorías distintos subtipos genéticos, en su caso, de otra serovariedad, *S. Schwarzengrund*, sugiriendo diferentes fuentes de infección (Parada *et al.*, 2013).

Las cepas de *Salmonella* aisladas de cerdos en frigoríficos presentaron mayor variabilidad de pulsotipos que los hallados en granjas, posiblemente debido a que las contraen principalmente en los corrales de espera antes de la faena. Allí el hacinamiento de animales provenientes de diferentes granjas los expone al medio contaminado con MF que sumado al tiempo de espera y a la alta capacidad de sobrevivencia de *Salmonella* en el ambiente, contribuye al contacto e infección. Esta hipótesis la corroboran otros autores que encontraron una gran variabilidad de pulsotipos de *Salmonella* a partir de muestras de los corrales de espera coincidiendo posiblemente a la persistencia de cepas excretadas por numerosos cerdos a través del tiempo en ese lugar (Kich *et al.*, 2011). Además, el transporte y el tiempo de espera en los corrales favorecerían que en un mismo animal, *Salmonella* alcance los nódulos linfáticos

profundos por la vía linfática. Esto se ha corroborado fehacientemente aislando la misma serovariedad con idéntico perfil genético de *Salmonella* en CC y LN (Kich *et al.*, 2011; Hurd *et al.*, 2001).

De este modo los animales que provinieron de granjas con una baja prevalencia de *Salmonella* o libres de ella, pueden, por el mecanismo antes descrito, ser portadores y convertirse en una amenaza a la higiene de los alimentos, ya que llegarían al sacrificio con bacterias en su organismo. Otros autores asumen que las serovariedades de *Salmonella* y los genotipos detectables en MF son representativos de los presentes en nódulos linfáticos de los cerdos en la granja de origen (Erdman *et al.*, 2003; Wood *et al.*, 1989).

El análisis por PFGE-*XbaI* de los aislamientos permitió conocer los subtipos genéticos de cada serovariedad de *Salmonella* aislada en granjas y frigoríficos. La identificación de la serovariedad y el subtipo genético permitió correlacionar estos datos con otras variables, tales como el origen de la muestra (granja y/o frigorífico), el tipo de muestra (MF/CC/LN) y el patrón de RA, y así poder inferir si las cepas aisladas tendrían o no la misma fuente de infección.

Por otro lado, existe una Base de Datos Nacional (BDN) de Subtipos Genéticos de *Salmonella*, donde se registran los perfiles de PFGE de aislamientos asociados a salmonelosis en humanos. La comparación de los perfiles genéticos obtenidos de *Salmonella enterica* aisladas en cerdos por PFGE-*XbaI* permitió identificar los subtipos de una misma serovariedad que circulan en ambas especies.

*Salmonella Typhimurium*, es la serovariedad que se destaca por ser la más importante en salmonelosis no tifoidea en humanos en nuestro país y en el mundo sumado a la particularidad de la multirresistencia a ATM que presentan algunos aislamientos de este serotipo. En la BDN, *S. Typhimurium* posee perfiles genéticos de 1.611 aislamientos recuperados de: humanos (1.343), animales (152), alimentos (69), medio ambiente (12) y otros (35), y cuenta con 427 pulsotipos diferentes.

Es evidente la diversidad genética que presenta *S. Typhimurium*, como lo muestran los datos de la BDN y por lo observado en nuestro estudio, donde de 11 aislamientos de granjas y frigoríficos se identificaron 9 perfiles genéticos diferentes.

En la granja G10 (San Andrés de Giles) se encontraron 4 perfiles genéticos diferentes de *S. Typhimurium*, que correspondieron a 5 cepas aisladas de las etapas M4, M6 y M8. Un cluster agrupó a 2 cepas de las etapas M4 y M8, mientras que los otros 3 perfiles genéticos pertenecieron a M6. Sin embargo, en Argentina, Parada *et al.* identificaron un solo clon de *S. Typhimurium* en granja (Parada, 2014). Las dos cepas de *S. Typhimurium* seleccionadas por presentar el mismo pulsotipo por PFGE-*XbaI* y provenir de diferentes categorías M4 y M8 en la misma granja (G10), tuvieron el mismo perfil genético por PFGE-*BlnI*, clasificándose como indistinguibles según Tenover (Tenover *et al.*, 1995) y sugiriendo la posible infección de los animales de distintos grupos a partir de una misma fuente de infección.

En el frigorífico **B** se obtuvieron cepas de *S. Typhimurium* de 3 granjas distintas y tuvieron perfiles genéticos diferentes entre sí y con respecto a los observados en los aislamientos de granja. Por lo tanto, podríamos inferir que tanto en granjas y frigoríficos los animales adquirieron *S. Typhimurium* de distintas fuentes.

Del análisis de las cepas de *S. Typhimurium* de nuestro estudio con las cepas de casos humanos registrados en la BDN se encontró una cepa de *S. Typhimurium* aislada de LN de cerdos provenientes de G5 (Chacabuco) resistente a TET y S, con el mismo patrón genético (ARJPXX01.0202) que 20 aislamientos de origen humano que se aislaron mayormente de casos de gastroenteritis y de un caso de septicemia entre los años 2008 y 2014 en diferentes provincias de la Argentina. Así pues, según lo registrado podemos interpretar que este patrón genético de *S. Typhimurium* circulaba en cerdos en el año 2007 y lo hizo posteriormente en humanos. En concordancia con otros estudios de nuestro país, se observó un alto porcentaje de aislamientos de *S. Typhimurium* con el mismo perfil genético que el existente en aislamientos de casos de salmonelosis en humanos registrados en la BDN, indicando una relación estrecha entre las poblaciones de esta serovariedad que circulan en cerdos con las aisladas en humanos (Parada, 2014).

Se destaca la gran distribución a lo largo del país de este patrón de *S. Typhimurium*, lo que indica un patrón con alta capacidad de diseminación y de permanencia, identificado en un cerdo portador asintomático en nuestro estudio y en numerosos casos de salmonelosis en humanos; indicando posiblemente que puede ser transmitido a humanos por distintos alimentos a lo largo del tiempo.

El patrón genético (ARJPXX01.0177) de la cepa de *S. Typhimurium* aislada de LN de un cerdo proveniente de G9 (Henderson) coincidió con el de una cepa aislada de MF de un caso de gastroenteritis en humano en Capital Federal, ambas fueron aisladas en el año 2007, demostrando que este patrón está circulando en cerdos y humanos en Buenos Aires. Este patrón estuvo altamente relacionado genéticamente (Coef. Dice 95%) con una cepa de *S. Typhimurium* que produjo un brote de salmonelosis en Tucumán (2006).

El patrón genético (ARJPXX01.0211) se identificó en 3 cepas de *S. Typhimurium* aislada de MF de cerdos de G10, en 2 brotes de *S. Typhimurium*, uno producido en Río Negro (2009) y el otro en Neuquen (2011) y en 2 muestras de alimento (no especificado) remitidas de Neuquen (2012). El patrón genético (ARJPXX01.0265) de la cepa de *S. Typhimurium* aislada de CC de G3, presenta gran similitud (Coef. Dice 95%) con un patrón presente en varios brotes.

Podemos concluir, por los resultados obtenidos, que esta serovariedad tiene una extensa variabilidad genética, gran capacidad para adquirir resistencia a los ATM y que existen varios subtipos de *S. Typhimurium* circulando tanto en cerdos como asociados a infecciones en humanos en Argentina.

La serovariedad *S. Agona*, tiene registrado en la BDN 44 aislamientos, correspondientes a humanos (33), animales (7) y alimentos (4), con 23 perfiles genéticos diferentes.

Entre los aislamientos de *S. Agona* analizados, se encontró un cluster que agrupó el aislamiento obtenido en la granja G9 y dos aislamientos de LN de diferentes cerdos provenientes de esa misma granja en el frigorífico, lo cual sugeriría que los cerdos de faena que provenían de la granja G9 eran portadores de *S. Agona* desde la granja de origen. Sin embargo, la cepa de *S. Agona* de granja fue resistente a TET y las cepas de *S. Agona* de frigorífico fueron sensibles a todos los ATM probados, probablemente debido a que las cepas de granja adquirieron la RA por algún mecanismo de transferencia horizontal; y a través del tiempo las cepas aisladas en frigoríficos la perdieron. La técnica de PFGE-*BlnI* confirmó que el aislamiento de granja y el de frigorífico seleccionados del cluster, eran indistinguibles.

Comparando los aislamientos de *S. Agona* de origen humano de la BDN con las cepas de nuestro estudio, se encontró el mismo perfil genético (ARJABX01.0001) en una cepa de granja (G6), 2 cepas en cerdos de faena provenientes de la misma granja G6 y 11 cepas de *S. Agona* de origen humano, 8 correspondientes a casos de gastroenteritis registrados en Neuquén (2015), Córdoba (2010), Viedma (2005), Guaymallen (2005), La Rioja (n=2) (2005), Azul (2008) y Capital Federal (2005); y las otras 3 cepas aisladas de tumoraciones, dermatitis y osteítis en la provincia de Córdoba. Asimismo, en la BDN se observa que en el año 2005 *S. Agona* se aisló de 2 chorizos de cerdos, uno en CABA que presentó el mismo patrón que el nuestro y otro en La Plata con un patrón diferente.

Es interesante destacar que el mismo año se aisló *S. Agona* de harina de soja en Santa Fe (2005), subproducto utilizado en la alimentación de los cerdos, aunque el subtipo genético fue diferente. Y en el año 2009 se volvió a aislar *S. Agona* de soja en Santa Fe diferente a los anteriores asignándole un nuevo patrón.

Concluimos que *S. Agona* se encontró en todos los eslabones del sistema de producción porcina, alimento para cerdos, cerdos de granja, cerdos de faena y finalmente llegó a los consumidores. Los resultados de este estudio confirman que el mismo subtipo genético de *S. Agona* está circulando tanto en cerdos como asociado a infecciones en humanos en nuestro país.

*Salmonella* Seftenberg, es una importante serovariedad relacionada al alimento que consumen los cerdos (Kich *et al.*, 2011). En la BDN hay 11 aislamientos de *S. Seftenberg*, de los cuales 5 son de animales, 3 de alimentos (arroz, comida de ave y

harina de soja), 2 de medio ambiente y uno sólo de humano, con 10 perfiles diferentes. En nuestro estudio se aislaron dos cepas de *S. Seftenberg* en la granja G7 y en cerdos faenados provenientes de la misma granja en el frigorífico A, ambas cepas presentaron perfiles genéticos diferentes, pero difirieron solo en 3 bandas. Por lo tanto, podemos inferir que la cepa aislada en frigorífico probablemente provino de la granja, aunque no sea el mismo subtipo genético, porque las cepas están estrechamente relacionadas genéticamente. En la BDN no hubo patrones genéticos iguales a los encontrados en nuestro estudio, pero se observa una gran variabilidad genética entre los aislamientos de diferentes orígenes. Sólo se reporta una cepa de *S. Seftenberg* de origen humano aislada de un caso de gastroenteritis en CABA (2007).

A pesar que todos los subtipos genéticos de los aislamientos de la BDN son diferentes, podemos inferir que *S. Seftenberg* esta asociada al sistema de producción porcina, pues se aisló de harina de soja y de cerdos de granja y frigorífico. Pero por lo menos hasta el momento, no se destaca esta serovariedad en infecciones en humanos a gran escala.

La serovariedad que presentó mayor cantidad de aislamientos en frigoríficos fue *S. Schwarzengrund*. En la BDN tiene predominio de aislamientos de origen porcino (30), le siguen en orden decreciente humanos (7), medio ambiente (4), alimentos (2) y pollo (1), con un total de 11 patrones genéticos diferentes. En *S. Schwarzengrund* se identificó un cluster (ARJM6X01.0006) que abarcó 26 cepas aisladas en cerdos faenados de 3 granjas distintas (G1, G4 y G8) y en 2 frigoríficos (A y D), lo que fortalece la hipótesis de una fuente de infección en común que puede estar relacionada al transporte o los corrales de espera en el frigorífico.

Tres aislamientos de *S. Schwarzengrund* seleccionados para el PFGE-*BlnI* presentaron el mismo perfil genético en aislamientos de cerdos de faena provenientes de 3 granjas distintas y de distintos frigoríficos G8 (D), G4 (D) y G1 (A). La otra cepa de G1 mostró un perfil altamente relacionado, con solo dos bandas diferentes, demostrando su relación genética.

En los cerdos faenados de G4, debido al alto número de aislamientos pertenecientes al mismo cluster, podemos decir que se produjo amplia diseminación de *S. Schwarzengrund* en el frigorífico **D**. No hubo coincidencia con los perfiles genéticos de origen humano de la BDN, pero se ha reportado esta serovariedad en 5 casos de gastroenteritis en humanos en Salta (n=3) (2005) y Córdoba (n=2) (2012); asimismo se aisló de un absceso en CABA (2014) y de un caso de septicemia en Tucumán (2015). *Salmonella* Schwarzengrund también se aisló de la MF de un pollo y en 4 muestras de medio ambiente relacionadas a los pollos. En otro estudio de nuestro país, se identificaron 2 subtipos genéticos de *S. Schwarzengrund* en cerdos de faena de la provincia de San Luis (2007-2008) (Parada *et al.*, 2013); pero no coinciden con los nuestros. En la BDN, sólo hay información de uno de los 2 aislamientos procedentes de alimentos, que perteneció a un alimento derivado del pollo. Podemos concluir que *S. Schwarzengrund* esta asociada a cerdos, pollos y puede causar diversas afecciones en humanos.

Una de las serovariedades MDR de nuestro estudio, *S. Heidelberg*, presenta en la BDN un total de 78 aislamientos, correspondiendo a humanos (30), cerdos (15), animales (26), alimentos (5) y medio ambiente (2), con 26 patrones genéticos diferentes. En *S. Heidelberg* se identificó un cluster (ARJF6X01.0005) de 15 cepas aisladas de CC y/o

LN en el frigorífico **A** provenientes de la misma granja (G1), con el mismo patrón de resistencia antimicrobiana, AMP-TET-S-CMP-TMS, indicando probablemente una misma fuente de infección, relacionada al frigorífico. La selección de 3 cepas de *S. Heidelberg* de animales diferentes y diferente tipo de muestra para PFGE-*BlnI* confirmó que todos tenían el mismo perfil genético. Por lo tanto, podemos suponer, por el alto número de aislamientos y la identificación de un cluster, que este subtipo de *S. Heidelberg* se diseminó e infectó a los animales del frigorífico **A**.

En cuanto a la diversidad genética de *S. Heidelberg* hay opiniones encontradas. Mientras en Canadá consideran que tiene una diversidad genética limitada a nivel cromosomal (Andrysiak *et al.*, 2008), en EEUU se demostró una amplia variedad genética, avalada por el hallazgo de 30 patrones diferentes por PGFE en 58 cepas aisladas de *S. Heildelbeg* de origen animal (Lynne *et al.*, 2009). Nuestros resultados concuerdan con estos autores ya que ninguno de los pulsotipos de aislamientos de *S. Heidelberg* de distintos orígenes almacenados en la BDN coincidió con el patrón genético de nuestro estudio. En el año 2004, *S. Heidelberg* produjo un brote en un evento que afectó a 83 personas por el consumo de un alimento en CABA (Caffer *et al.*, 2007); y en la BDN se observan 5 cepas de *S. Heidelberg* aisladas de alimentos (tipo no especificados) en CABA (n=1) (2008) y en La Plata (n=4) (2014). Por lo tanto, podemos decir que *S. Heidelberg* es una serovariedad con una importante variabilidad genética que se puede encontrar en múltiples sitios, pero que es prevalente en cerdos y esta asociada a infecciones en humanos con capacidad de producir brotes.

Otra serovariedad que causó brotes de salmonelosis en humanos en nuestro país fue *S. Newport*. La misma, posee 391 aislamientos en la BDN, de los cuales corresponden a

humanos (333), alimentos (32), animales (24) y medio ambiente (2), con más de 65 perfiles genéticos diferentes. Las cepas de *S. Newport* y de *S. subsp. I (6,8:e,h:-)* presentaron el mismo perfil genético (ARJJPX01.0065), formando parte del mismo cluster. *Salmonella subsp. I (6,8:e,h:-)* presenta una fórmula similar a *S. Newport (6,8:e,h:1,2)*, excepto que no presenta la expresión de la segunda fase flagelar. Así, se determinó que *S. subsp. I (6,8:e,h:-)* es una cepa de *S. Newport* monofásica. Todas las cepas de este cluster fueron aisladas en el frigorífico **B** provenientes de la misma granja G2. Por el gran número de aislamientos podemos ver que hubo una gran diseminación de salmonelosis por *S. subsp. I (6,8:e,h:-)* y *S. Newport* en el frigorífico **B** y la fuente de infección probablemente esté relacionada al frigorífico y/o transporte.

Se confirmó que *S. Newport* y *S. subsp. I (6,8:e,h:-)* presentan el mismo perfil genético por PFGE-*BlnI* seleccionando 2 cepas de cada una aisladas en frigorífico de la misma granja (G2), de animales diferentes y diferente tipo de muestra CC y LN.

El patrón genético obtenido en *S. Newport* y *S. subsp. I (6,8:e,h:-)*, coincidió con el patrón genético de 68 aislamientos de origen humano aislados entre los años 2001 y 2014 de casos de gastroenteritis, excepto una cepa que fue aislada de infección urinaria, provenientes de distintas provincias de Argentina. Se observó amplia distribución geográfica y diseminación en la especie humana y porcina de este patrón genético de *S. Newport*. Así como, su virulencia por la cantidad de casos de salmonelosis en humanos y su capacidad de producir infecciones en un gran número de animales como se observó en el frigorífico **B**, donde los cerdos provenientes de G2 se infectaron con *S. Newport* y *S. subsp. I (6,8:e,h:-)*.

Por otro lado, *S. Bredeney*, posee escasas cepas en la BDN (18), con 6 perfiles genéticos diferentes, correspondiendo a cerdos (8), pollos (6), alimentos (2), humano (1) y otro (1). Entre las cepas de *S. Bredeney* de nuestro estudio, se identificó un cluster que correspondió a 7 cepas aisladas de CC y/o LN en el frigorífico C de cerdos de la misma granja G6. Todos, excepto uno de los aislamientos que presentó sensibilidad intermedia a AMP y CEF, fueron sensibles a todos los ATM probados. Los 2 aislamientos seleccionados del cluster de animales diferentes y diferente tipo de muestra CC y LN, por PFGE-*BlnI* presentaron el mismo perfil genético. Por el número de aislamientos y por tratarse de un cluster, podemos decir que hubo una diseminación de salmonelosis por *S. Bredeney* en el frigorífico C y que la fuente de infección puede estar relacionada al frigorífico y/o al transporte. Otros autores confirmaron que *S. Bredeney* se aisló frecuentemente de los camiones de transporte (Magistrali *et al.*, 2008). Según la BDN, un aislamiento de *S. Bredeney* de origen humano de una punción de absceso aislada en el año 2012 y un aislamiento de origen porcino aislado en San Luis, presentaron el mismo perfil genético que el cluster de *S. Bredeney* de nuestro estudio. Diferentes subtipos genéticos de *S. Bredeney* se encontraron en 6 cepas de pollos en Buenos Aires (2007) y 2 alimentos derivados del pollo en Entre Ríos (2007).

Otra de las serovariedades reportadas como MDR más prevalente, *S. Derby*, demostró en este estudio su capacidad para adquirir resistencia a los ATM. En la BDN, *S. Derby* posee 38 aislamientos, de los cuales se encontraron 20 perfiles diferentes, correspondientes a humanos (14), cerdos (18), pollos (1), alimentos derivados de cerdo (2), alimentos derivados de pollo (2) y de fiambre bondiola (1). Según los perfiles genéticos analizados por PGFE-*XbaI*, en *S. Derby* se identificó un cluster (ARJDPX01.0006) que abarcó 3 cepas aisladas en el frigorífico C que provenían de la

misma granja G6. Los dos aislamientos de *S. Derby* seleccionados del cluster, provenientes de animales diferentes y de diferente tipo de muestra CC y LN, por PFGE-*BlnI* presentaron el mismo perfil genético. Este subtipo genético es nuevo en la BDN, pues no se encontró en otros aislamientos de origen humano, alimentos ni animales.

Los otros aislamientos de *S. Derby*, que se aislaron en diferentes frigoríficos y pertenecían a distintas granjas, a saber, en el frigorífico **A** (G7), en el **B** (G2) y en el **D** (G8 y G9), presentaron perfiles genéticos diferentes (ARJDPX01.0009), (ARJDPX01.0005), (ARJDPX01.0007) y (ARJDPX01.0008) respectivamente. Se puede observar en esta serovariedad gran variabilidad genética, la cual ha sido confirmada por otros estudios (Hauser *et al.*, 2011; Parada, 2014).

El perfil genético de *S. Derby* (ARJDPX01.0005) fue aislado de CC de cerdos provenientes de G2 (Salto) en nuestro estudio y en dos cepas aisladas de casos clínicos humanos, uno de infección urinaria en Córdoba (2012) y el otro de gastroenteritis en La Pampa (2013). Asimismo, este perfil genético coincidió con una cepa de *S. Derby* aislada de fiambre bondiola en Córdoba (2011) y con una cepa aislada de MF de cerdo en Buenos Aires (2011). Si bien, estos aislamientos se han hallado en diferentes lugares y no existe una relación conocida entre ellos, el poseer el mismo perfil genético, permite suponer que *S. Derby* sea responsable de infecciones cruzadas entre cerdos y humanos en nuestro país. Así como lo comprobaron en Alemania, al encontrar el mismo clon de *S. Derby* en cerdos, carne de cerdo y humanos de su país (Hauser *et al.*, 2011).

Los restantes subtipos genéticos de *S. Derby* de este estudio no presentaron el mismo perfil genético que los de origen humano, de alimentos ni de cepas de origen porcinos

descriptos en la BDN. Por otra parte, de los 5 aislamientos de origen alimenticio en la BDN, 3 son de origen porcino y 2 son de pollos, todos aislados en Córdoba (2011-2012). Como mencionamos anteriormente, uno de estos alimentos de origen porcino (fiambre bondiola) coincidió con un subtipo genético de nuestro estudio, mientras que una cepa aislada de salame (2012) presentó el mismo subtipo genético que la hallada en 3 casos de gastroenteritis en humanos (2012).

Concluimos que *S. Derby* es una serovariedad con gran variabilidad genética, prevalente en cerdos y pollos; y que esta asociada a infecciones en humanos en nuestro país.

*Salmonella Infantis*, fue identificada como la tercer serovariedad más prevalente en humanos entre los años 2002 y 2005 en Argentina (Caffer *et al.*, 2007). En la BDN tiene 93 aislamientos, correspondiendo a humanos (67), animales (15), alimentos (7) y medio ambiente (4), con 24 perfiles genéticos diferentes. En las cepas de *S. Infantis* de este estudio, se identificó un cluster (ARJFXX01.0004) que agrupó 4 cepas aisladas de diferentes animales en el frigorífico **D** provenientes de la misma granja (G4). Las 2 cepas de *S. Infantis* seleccionadas de animales diferentes provenientes de la misma granja y de distinto tipo de muestra CC y LN, presentaron diferente perfil genético con sólo una banda de diferencia, lo que significa que están altamente relacionados genéticamente. En la BDN, el perfil genético (ARJFXX01.0004) del cluster mencionado coincide con el de 16 aislamientos de *S. Infantis* aislados de casos de gastroenteritis en humanos obtenidos entre los años 2004 y 2016 provenientes de diferentes lugares, Capital Federal, Santa Fe, La Plata, El Palomar, Neuquen, Salta y Rosario. Asimismo, este subtipo genético de *S. Infantis* se aisló de un alimento (no especificado) en la provincia de Entre Ríos (2007) y una muestra de medio ambiente en

la misma provincia (2010). En la BDN, se identifican 2 alimentos donde se aislaron cepas de *S. Infantis*, uno de carne y otro de huevos, con distintos patrones al nuestro. Sin embargo, otros autores no hallaron los mismos perfiles genéticos de las cepas de *S. Infantis* aisladas de cerdos con los de casos humanos en la BDN (Parada, 2014).

Podemos decir que *S. Infantis* es una serovariedad prevalente en animales y está asociada a infecciones en humanos, y el subtipo genético hallado en cerdos de faena en este estudio estuvo asociado a infecciones en humanos reportadas en distintas provincias de nuestro país, indicando por un lado que probablemente hay múltiples fuentes de infección y confirmando que el cerdo es un potencial portador asintomático de este subtipo genético de *S. Infantis*.

Una serovariedad raramente aislada en animales y humanos, es *S. Orion*, que sólo tiene 2 aislamientos en la BDN y que se corresponden a las 2 cepas de nuestro estudio aisladas de CC de diferentes cerdos de faena provenientes de granja G7, mostrando 2 perfiles genéticos diferentes con una banda de diferencia, siendo muy relacionados genéticamente y formando parte del mismo origen.

Otra serovariedad que no se aísla con frecuencia, *S. Rissen*, posee 4 aislamientos en la BDN, que corresponden a 3 cepas de nuestro estudio y a un aislamiento de medio ambiente. Las 3 cepas aisladas de cerdos de faena provenientes de 2 granjas distintas y obtenidas en 2 frigoríficos diferentes (C y D) presentaron el mismo perfil genético, por lo cual podemos inferir dos causas de este hallazgo, que el origen de las cepas tenga una fuente de infección común a nivel de granjas o por otro lado demuestra que esta

serovariedad tiene poca variabilidad genética. Sin embargo, se necesitaría una mayor cantidad de aislamientos para poder afirmar esta suposición.

Por otro lado, en la BDN se pudieron observar 8 aislamientos de *S. Anatum* de origen humano, de los cuales 7 fueron de casos de gastroenteritis y 1 de una infección urinaria. La cepa de *S. Anatum* aislada de CC de cerdos provenientes de G4 (Pergamino), tuvo el mismo perfil genético (ARJABX01.0001) que una cepa de origen humano aislada de un caso de gastroenteritis en la provincia de Córdoba (2010). Tal como en otro estudio de nuestro país, el pulsotipo de una cepa de *S. Anatum* de cerdo aislada en la provincia de Santa Fe tuvo un cierto grado de similitud con un aislamiento de MF en una persona en la provincia de Córdoba (Parada, 2014).

En el caso de *S. Adelaide*, presenta 2 aislamientos en la BDN, uno pertenece a nuestro estudio, de una cepa aislada de CC de un cerdo de faena proveniente de la granja G6, que presentó el primer patrón asignado a esta serovariedad (ARJABN01.0001) y el otro aislamiento con un patrón diferente (ARJABN01.0002) fue de origen humano de un caso de infección urinaria en la provincia de Córdoba en el año 2014, observándose entre ambos aislamientos un 95% de relación genética.

Por último, *S. Tennessee* posee 7 aislamientos en la BDN, con 5 perfiles diferentes, correspondiendo una cepa de cerdo aislada en nuestro estudio de MF de la etapa M8 en la granja G9, que obtuvo el primer patrón asignado a esta serovariedad (ARJNXX01.0001), el mismo patrón se observó en 2 cepas de medio ambiente de una fábrica de algodón y las 4 cepas restantes se aislaron de alimentos (alimento de animales, harina de soja y expeller) presentando diferentes perfiles genéticos al nuestro. La presencia de *S. Tennessee* en los alimentos que consumen los cerdos en las granjas, y

en este caso la cepa aislada de materia fecal de cerdos de granja G9, indica que el alimento podría ser una posible fuente de infección.

Se podría concluir que, uno o más aislamientos de las serovariedades de *S. Anatum*, *S. Agona*, *S. Derby*, *S. Newport*, *S. subsp. I (6,8:e,h:-)*, *S. Infantis* y *S. Typhimurium* presentaron perfiles genéticos iguales a los patrones de PFGE-*XbaI* identificados en uno o más aislamientos de su respectiva serovariedad, de origen humano. Esto coincide con otros autores que encontraron las mismas serovariedades y subtipos genéticos de *Salmonella* en aislamientos de origen humano y en cerdos, por lo que el cerdo es considerado una fuente de salmonelosis no-tifoidea para el humano (Vo *et al.*, 2006; Parada, 2014).

Los patrones genéticos de las cepas aisladas en este estudio de las serovariedades *S. Schwarzengrund*, *S. Seftenberg*, *S. Heidelberg*, *S. Orion*, *S. Rissen*, *S. Tennessee* y *S. Adelaide* no mostraron perfiles genéticos concordantes con los identificados en la BDN de su respectiva serovariedad con los aislamientos de origen humano. Esto coincide con los escasos reportes de nuestro país de casos clínicos tanto en humanos como animales relacionados a estas serovariedades, pero que son frecuentemente aisladas en otros países. *Salmonella* Heidelberg se aisló frecuentemente en EEUU y Canadá de casos humanos (WHO, 2005; Aarestrup *et al.*, 2004; Demczuc *et al.*, 2005). *Salmonella* Rissen ha emergido en España desde el año 2000 entre aislamientos de *Salmonella* de humanos (Echeita *et al.*, 2005). *Salmonella* Anatum y *S. Bredeney* en cerdos de faena (Magistrali *et al.*, 2008; Mannion *et al.*, 2012). *Salmonella* Tennessee se halló en granjas porcinas de España (García-Feliz *et al.*, 2007) y en Finlandia (Kuronen *et al.*,

2010). *Salmonella* Seftenberg se aisló de casos clínicos de cerdos en EEUU (Pocurull *et al.*, 1971).

Con la aplicación de la técnica PFGE-*BlnI* en aislamientos seleccionados, se pudo obtener mayor poder discriminatorio, con subtipos genéticos diferentes dentro de los mismos pulsotipos obtenidos por PFGE-*XbaI* en las serovariedades *S. Schwarzengrund* y *S. Infantis*, aunque sólo diferían en una y dos bandas de ADN respectivamente. En el caso de *S. Infantis* las 2 cepas comparadas se aislaron de CC y LN de animales diferentes provenientes de G4-Pergamino en el mismo frigorífico (**D**). Cuatro de las *S. Schwarzengrund* seleccionadas para PFGE-*BlnI* tuvieron el mismo pulsotipo (ARJM6A26.0001), tres de ellas aisladas en el frigorífico **D**, de LN de animales diferentes, dos provenientes de G8 y una de G4 impulsando a la teoría de que probablemente esos animales se infectaron en el frigorífico de la misma fuente. En este mismo lugar, se aisló *S. Schwarzengrund* de CC de G1 con un perfil genético diferente (ARJM6A26.0002) indicando que posiblemente los animales del frigorífico **A** se infectaron a partir de diferentes fuentes de infección, aunque los perfiles solamente diferían en una banda de ADN.

El resto de las cepas de otras serovariedades seleccionadas para esta técnica, presentaron el mismo perfil genético, confirmando pertenecer al mismo genotipo.

Al comparar los resultados de PFGE con los datos de RA no pareció haber relación entre el perfil de PFGE y el fenotipo de resistencia ya que en los aislamientos MDR de la misma serovariedad hubo perfiles de PFGE heterogéneos, hallazgo observado también por otros investigadores en EEUU (Lynne *et al.*, 2009). Los patrones de RA también mostraron evidencia de subpoblaciones en cepas con el mismo perfil genético, tal como se observó en un cluster de 3 cepas de *S. Agona*, donde una cepa aislada en

granja G9 era resistente a TET y las otras dos cepas aisladas en cerdos de faena procedentes de la misma granja fueron sensibles a todos los ATM probados; presumiblemente significando la adquisición de diferentes mecanismos RA por transferencia horizontal (Zhao *et al.*, 2008).

Las cepas de la granja G10 aisladas de diferentes etapas M4, M6 y M8, con un fenotipo de resistencia idéntico (AMP-TET), presentaron 4 perfiles genéticos diferentes. Las tres cepas de *S. Typhimurium* aisladas en el frigorífico **B** de cerdos que provenían de la misma granja G3 presentaron perfiles genéticos diferentes pero altamente relacionados y presentaron el mismo patrón de RA (TET-S-NAL-CMP-TMS-NIT), excepto una de ellas con sensibilidad intermedia a NIT. Otros autores exponen que la distribución de los aislamientos MDR es una expresión de transferencia genética exitosa, porque la mayoría de los determinantes de la resistencia están claramente asociados con elementos genéticos móviles (Butaye *et al.*, 2006).

Por otro lado, un factor que influye en la selección y diseminación de las bacterias MDR es el uso excesivo de ATM en las granjas (Threlfall *et al.*, 2000).

En general, observamos que en muchos casos, las mismas serovariedades de *Salmonella* con idéntico patrón de resistencia a los ATM aisladas en animales de faena pero de diferentes granjas, presentaron diferentes perfiles genéticos.

Por todo lo expuesto, la RA no se la pudo correlacionar con el perfil genético que se obtuvo por PGFE, coincidiendo con otros autores que observaron que las cepas sensibles o resistentes no se pueden distinguir con PFGE (Le Corre *et al.*, 1999).

Se expone, en forma general, que las poblaciones de *Salmonella* a nivel de las granjas están bien establecidas, con una serovariedad que domina en el ambiente de la granja (Arguello *et al.*, 2013). Sin embargo, en nuestro estudio hemos aislado más de una serovariedad en una granja.

Estos resultados realzan la importancia que tiene *Salmonella* spp. en la especie porcina y su posible rol en la epidemiología de la infección en humanos. Por lo cual se debería implementar un programa de control integrado de *Salmonella*, basado en las buenas prácticas de manejo en las granjas, el uso prudente de los ATM, la desinfección del medio ambiente del establecimiento, el análisis de riesgos y puntos críticos de control de los sistemas en el frigorífico para disminuir el peligro de la transmisión de *Salmonella* a los consumidores.

Confirmamos la hipótesis de que existen serovariedades y subtipos genéticos identificados en cerdos relacionados a subtipos asociados a infecciones en humanos. En nuestro estudio encontramos el mismo subtipo genético de *S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Infantis*, *S. Newport*, *S. Bredeney*, *S. Derby*, *S. Anatum* y *S. Adelaide*, circulando en cerdos y en casos de salmonelosis en humanos.

Concluimos, que sería necesario el monitoreo continuo de la prevalencia de *Salmonella* en granjas de cerdos y frigoríficos y de la RA, así como la identificación de las serovariedades y los perfiles genéticos, para mejorar significativamente la vigilancia de las infecciones de *Salmonella* e investigaciones de futuros brotes en la Salud Pública.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

1. Aarestrup FM, Bager F, Jensen NE, Madsen M, Meyling A, Wegener HC. Surveillance of antimicrobial resistance in bacteria isolated from food animals to antimicrobials growth promoters and related therapeutic agents in Denmark. *APMIS*. 1998; 106: 606-22.
2. Aarestrup FM, Hasman H, Olsen I, Sorensen G: International spread of bla(CMY-2)-mediated cephalosporin resistance in a multiresistant *Salmonella enterica* serovar Heidelberg isolate stemming from the importation of a board by Denmark from Canada. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48: 1916-7.
3. Agustín AI, Carramiñana JJ, Rota C, Herrera A. Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. from pigs at slaughter in Spain in 1993 and 2001. *Lett Appl Microbiol*. 2005; 41: 39-44.
4. Ahmed AM, Ishida Y, Shimamoto T. Molecular characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from animals in Japan. *J Appl Microbiol*. 2009; 106: 402-9.
5. Alban L, Baptista FM, Møgelmoose V, Sørensen LL, Christensen H, Aabo S, *et al*. *Salmonella* surveillance and control for finisher pigs and pork in Denmark — A case study. *Food Res Inter*. 2012; 45: 656–65.

6. Amavisit P, Markham PF. Variation between pathogenic serovars within *Salmonella* pathogenicity island. J Bacteriol. 2003; 185: 3624-35.
  
7. Andreoletti O, Budka H, Buncic S, Colin P, Collins J D, Koeijer AD, *et al.* A quantitative microbiological risk assessment on *Salmonella* in meat: source attribution for human salmonellosis from meat. The EFSA Journal. 2008; 625: 2-32.
  
8. Andrysiak Ashleigh K, Olson Adam B, Tracz Dobryan M, Dore Kathryn, Irwin Rebecca, Ng Lai-King, *et al.* Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance Collaborative. BMC Microbiol. 2008; 8: 1-13.
  
9. Angkititrakul S, Chomvarin C, Chaita T, Kanistanon K, Waethewutajarn S. Epidemiology of antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from pork, chicken meat and humans in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2005; 36: 1510-5.
  
10. ANLIS. VI Curso Epidemiología molecular en la vigilancia de las infecciones bacterianas. Buenos Aires, 3-7 de noviembre. 2008.
  
11. Arcos – Avila EC, Mora - Cardona L, Fandino – De Rubio LC y Rondon – Barragan IS. Prevalencia de *Salmonella* spp. en carne porcina, plantas de beneficio y expendios del Tolima. Orinoquia. 2013b; (17): 59-68.

12. Arguello H, Sørensen G, Carvajal A, Baggesen DL, Rubio P, Pedersen K. Prevalence, serotypes and resistance patterns of *Salmonella* in Danish pig production. Res Vet Sci. 2013; 95: 334–42.
  
13. Arnold MEA, Cook and Davies R. A modelling approach to estimate the sensitivity of pooled faecal samples for isolation of *Salmonella* in pigs. J R Soc Interface. 2006; 2: 365-72.
  
14. Asai T, Esaki H, Kojima A, Ishihara K, Tamura Y, Takahashi T. Antimicrobial resistance in *Salmonella* isolates from apparently healthy food-producing animal from 2000 to 2003: the first stage of Japanese veterinary antimicrobial resistance monitoring (JVARM). J Vet Med Sci. 2006; 68: 881-4.
  
15. Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). Feldsine P, Abeyta C, Andrews Wallace H. AOAC Internacional methods committee guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official methods of analysis. AOAC International OMA Program Manual, Appendix X. 2002.
  
16. Bager F, Aarestrup FM, Jensen NE, Madsen M, Meyling A, Wegener HC. Design of a system for monitoring antimicrobial resistance in pathogenic, zoonotic and indicator bacteria from food animals. Acta Vet Scand Suppl. 1999; 92: 77-86.
  
17. Baggesen, DL, Wegener, H. C. Detection of *Salmonella* in swine. Dansk Veterinaer Tidsskrift. 1993; 76: 1017-22.

18. Baggesen DL, Wegener HC, Bager F, Stege H, and Christensen J. Herd prevalence of *Salmonella enterica* infections in Danish slaughter pigs determined by microbiological testing. *Prev Vet Med.* 1996; 26: 201-13.
  
19. Bahnson PB, Fedorks-Cray PJ, Ladely SR, and Mateus-Pinilla NE. Herd-level risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in US marketpigs. *Prev Vet Med.* 2006; 76: 249-62.
  
20. Barnes DM, Bergelan ME. *Salmonella* Typhisuis infection in Minnesota swine. *J Am Vet Med Assoc.* 1968; 152: 1766-9.
  
21. Baskerville A, Dow C. Pathology of experimental pneumonia in pigs produced by *Salmonella Choleraesuis*. *J Comp Pathol.* 1973; 83: 207-15.
  
22. Bauer AA, Kirby WM, Scherris JC, Truck M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966; 45: 493-6.
  
23. Benson CE, Palmer JE, Bannister MF. Antibiotic susceptibilities of *Salmonella* species isolated at a large animal veterinary medical center: a three year study. *Can J Comp Med.* 1985; 49: 125-8.
  
24. Berends BR, Van Knapen F, Snijders JMA, Mossel DAA. Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. *Int J Food Microbiol.* 1997; 36: 199-206.

25. Blanc - Potard AB, Groisman EA. The SPI-3 Pathogenicity island of *Salmonella enterica*. J Bacteriol. 1999; 181: 998-1004.
26. Blood DC y Radostits OM. Enfermedades causadas por especies de *Salmonella*. En: Medicina Veterinaria. 7ma Edición. Col. Atlampa, Mexico D.F. Ed. McGraw – Hill Interamericana. 1992, vol. 1, cap. 16, p. 692-707.
27. Borge C, Marquez del Cid JM, Sanchez-Collado G, Carbonero A, García-Bocanegra I, Arenas A, *et al.* Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* serotypes isolates from Iberian pigs reared in extensive farms in Southwest Spain. Proceedings of the International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis. France. 2010, p. 257-8.
28. Boughton C, Leonard FC, Egan J, Kelly G, O'Mahony P, Markey BK, *et al.* Prevalence and number of *Salmonella* in Irish retail pork sausages. J Food Prot. 2004; 67: 1834-9.
29. Boyen F, Haesebrouck F, Maes D, Van Immerseel F, Ducatelle R, Pasmans F. Non-typhoidal *Salmonella* infections in pig: a closer look at epidemiology, pathogenesis and control. Vet Microbiol. 2008; 130: 1-19.
30. Butaye P, Michael GB, Schwarz S, BarrettTJ, Brisabois A, White DJ. The clonal spread of multidrug-resistant non-typhi *Salmonella* serotypes. Microbes infect. 2006; 8: 1891-7.

31. Bywater R, Deluyker H, Deroover E, De jong A, Marion H, McConville M, *et al.* European survey of antimicrobial susceptibility among zoonotic and commensal bacteria isolated from food-producing animals. *J Antimicrob Chemother.* 2004; 54: 744-54.
32. Caffer MI, Alcain A, Panagopulo M, Terragno R. Evolución de la salmonelosis en Argentina, en el período 2004-2006. Comunicación oral 7. *Rev Arg Microbiol.* 2007. 39 suplemento 1, 7-20320. ISSN 0325-75411.
33. Caffer MI, Alcain A, Panagopulo M, Moroni M, Brengi S, Terragno R. Serovariedades de *Salmonella* spp. en Argentina, 2007-2009. *Boletín epidemiológico.* 2010; p.146.
34. Caffer MI. Servicio de Enterobacterias. INEI. Buenos Aires, Argentina. 2015. (Datos no publicados).
35. Caffer MI, Terragno R, Binsztein N. Manual de procedimientos Diagnóstico y caracterización de *Salmonella* spp. Departamento Bacteriología Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS Dr Carlos G Malbrán. Buenos Aires, Argentina. 2008.  
[Online] [https://bvs.panalimentos.org/local/file/manual\\_salmonella\\_2008.pdf](https://bvs.panalimentos.org/local/file/manual_salmonella_2008.pdf)
36. Callaway TR, Morrow JL, Edrington TS, Genovese KJ, Dowd S, Carroll J, *et al.* Social stress increases fecal shedding of *Salmonella* Typhimurium by early weaned piglets. *Curr Issues Intest Microbiol.* 2006; 7:65-71.

37. Cappuccio J, Quiroga M, Machuca M, Piñeyro P, Arauz S, Pinto M, *et al.* Porcine dermatitis and nephropathy síndrome as a cause of death, retard growth and increase isolation of *Salmonella* Typhimurium in grower finisher phases in three Argentinean farms. In: Proceeding of the international Pig Veterinary Society. Copenhagen, Denmark: International PIG Veterinary Society. 2006: p.95.
38. Carranza A, Ambrogi A, Perfumo C, Zielinski G. Principales enfermedades que afectan a la producción porcina en Argentina. Memorias del Vº Congreso de Producción porcina del Mercosur, Río Cuarto, Córdoba, Argentina, 2006; p. 219-20.
39. Castagna SMF, Bessa MC, Carvalho M, Cardoso M, Costa M. Antimicrobial resistant patterns of *Salmonella* spp. isolated from slaughtered pigs in the state of Rio Grande do Sul Brasil. Arq Fac Vet UFRGS. 2001; 29: 44-9. [Online].  
<http://www.cdc.gov/foodborneburden/PDFs/pathogens-complete-list-01-12.pdf>
40. Cecchini E, González Ayala SE. Infecciones oportunistas en el SIDA. En: Infectología y Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires. Argentina. Ediciones Journal, 2008a, p. 749-65.
41. Cecchini E, González Ayala SE. Salmonelosis tífica En: Infectología y Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires. Argentina. Ediciones Journal, 2008b, p. 129-37.

42. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pathogens causing US foodborne illnesses, hospitalizations and deaths, 2000–2008. 2012 [Online] <https://www.cdc.gov/foodborneburden/PDFs/pathogens-complete-list-01-12.pdf>
43. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Preliminary FoodNet Data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food-10 states. MMWR. 2008; 57(14): 366-70. [Online] <http://www.cdc.gov/mmwr>
44. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Preliminary incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2006-2014. 2015. [Online] <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6418a4.htm>
45. Chen L, Yang J, Yu J, Yao Z, Sun L, Shen, *et al.* VFDB: a reference database for bacterial virulence factors. Nucleic Acids Res. 2005, Vol. 33, Database issue D325–D328. doi:10.1093/nar/gki008
46. Chen TH, Wang YC, Chen YT, Yang CH, Yeh KS. Serotype occurrence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates recovered from pork carcasses in Taiwan (2000 through 2003). J Food Prot. 2006; 69: 674-8.
47. Christensen, J., Baggesen, D. L., Nielsen, B., Stryhn, H. Herd prevalence of *Salmonella* spp. in Danish pig herds after implementation of the Danish *Salmonella* control program with reference to a pre-implementation study. Vet Microbiol. 2002; 88: 175-88.

48. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Third informational supplement, 2013; M100-S23. Wayne, PA, USA.
49. Craven JA and Hurst DB. The effect of time in lairage on the frequency of *Salmonella* infection in slaughtered pigs. J Hyg. 1982; 88: 107-11.
50. Davies PR, Morrow WEM, Jones FT, Deen j, Fedorka-Cray PJ, Harris IT. Prevalence of *Salmonella* in finishing swine raised in different production systems in North Caroline, USA. Epidemiol Infect. 1997; 119: 237-44.
51. Davies PR, Turkson PK, Funk JA, Nichols MA, Ladely SR, and Fedorka-Cray PJ. Comparison of methods for isolating *Salmonella* bacteria from faeces of naturally infected pigs. J Appl Microbiol. 2000; 89: 169-77.
52. De Busser EV, Maes D, Houf K, Dewulf J, De Zutter L. Effect of the enrichment medium on the detection and diversity of *Salmonella* from porcine duodenal content. Foodborne Pathog Dis. 2013; 10: 1-7.
53. De Frutos C, Ortiz E, Herrero A, Ayala JL, Fernandez B. Análisis de los serotipos de *Salmonella* spp. aislados durante los años 2002, 2003 y 2004 por los laboratorios de Sanidad Animal en España. 2005; Bol Epidemiol. Sem. CNE ISCIII. 2005; 13: 133-44.

54. Delhalle L, Saegerman C, Farnir F, Korsak N, Maes D, Messens W, *et al.* *Salmonella* surveillance and control at post-harvest in the Belgian pork meat chain. *Food Microbiol.* 2009; 26: 265-71.
55. Demczuc WP Ng, Ahmed R, Clark C, Tabor H, Dore K, Ciampa N, *et al.* Laboratory surveillance data for enteric pathogens in Canada: Annual summary 2005. Winnipeg, National Microbiology Laboratory; 2005.
56. Di Pietro S, Haritchabalet K, Cantoni G, Iglesias L, Mancini S, Temperoni A, *et al.* Vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos en la provincia de Río Negro, Argentina, 1993-2001. *Medicina (B. Aires).* 2004; 64: 120-4.
57. Echeita MA, Aladueña A, Gonzalez-Sanz R, dela Fuente M, Cerdan F, Arroyo M, *et al.* Análisis de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de muestras clínicas de origen humano en España. 2002 - 2003. *Bol. Epidemiol. Sem.* 2005. CNE ISCIII 13, 85-96.
58. Erdman MM, Wedel SD, Harris DL. Genotypic and phenotypic comparison of swine *Salmonella* isolates from farm and abattoir. *JSHAP.* 2003; 11: 169-72.
59. European Food Safety Authority (EFSA). Report of the Task forcé on Zoonoses Data collection on the analysis of the basekine survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs, in the EU, 2006-2007. Part A: *Salmonella* prevalence estimates. The EFSA journal. 2008; 135: 1-111. [Online] <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/135r>

60. European Food Safety Authority (EFSA). *Salmonella*. 2011. [Online] <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/salmonella.htm>
61. Emborg HD, Baggesen DL, Aarestrup FM. Ten years of antimicrobial susceptibility testing of *Salmonella* from Danish pig farms. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 62: 360-3.
62. Errecalde JO. Uso de antimicrobianos en animales de consumo. Incidencia del desarrollo de resistencias en la Salud Pública. *FAO Producción y sanidad animal*. 2004; 162: 1-61.
63. Esaki H, Morioka A, Ishihara K, Kojima A, Shiroki S, Tamura Y, *et al*. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolated from cattle, swine and poultry (2001-2002): report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *J Antimicrob Chemother*. 2004; 53: 266-70.
64. Farrington LA, Harvey RB, Buckley SA, Droleskey RE, Nisbet DJ, Inskip PD. Prevalence of antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from market-age swine. *J Food Prot*. 2001; 64: 1496-502.
65. Farrington LA, Harvey RB, Buckley SA, Stanker LH, Inskip PD. A preliminary survey of antibiotic resistance of *Salmonella* in market-age swine. *Adv Exp Med Biol*. 1999; 473: 291-7.
66. Farzan A, Friendship RM, Poppe C, Martin L, Dewey CE, Funk J. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of *Salmonella* Typhimurium DT104 on Ontario swine farms. *Can J Vet Res*. 2008; 72: 188-94.

67. Fedorka-Cray PJJ, Collins KTJ, Stabel JT, Gray and Laufer JA. Alternate routes of invasion may affect pathogenesis of *Salmonella* Typhimurium in swine. *Infect Immun.* 1995; 63: 2658-64.
68. Figueroa Ochoa IM, Verdugo Rodríguez A. Mecanismos moleculares de patogenicidad bacteriana de *Salmonella* sp. *Rev Latin Microbiol.* 2005; 47: 25-42.
69. Foley SL, Lynne AM. Food animal-associated *Salmonella* challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance. *J Anim Sci.* 2008; 86:173-87.
70. Food and Drug Administration - Bacteriological Analytical Manual (FDA-BAM). 8th Edition. Version 2007. Chapter 5, *Salmonella*.
71. Fosse JN, Oudot A, Rossero M, Laroche M, Federighi H, Seegers, *et al.* Contamination de produits primaires porcins par *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens* et *Salmonella enterica*. *Journées Recherche Porcine.* 2008; 40: 55-60.
72. Fosse J, Seegers H and Magras C. Prevalence and risk factors for bacterial food-borne zoonotic hazards in slaughter pigs: a review. *Zoonoses Public Health.* 2009; 56: 429-54.
73. Fravallo PV, Rose E, Eveno G, Salvat and Madec. Definition bactériologique du statut de porcs charcutiers vis-à-vis d'une contamination par *Salmonella*. Évolution de ce statut entre l'élevage et l'abattoir. *Journées Recherche Porcine.* 1999; 31: 383-9.

74. Funk J, Gebreyes WA. Risk factors associated with *Salmonella* prevalence on swine farms. JSHAP. 2004; 12: 246-51.
75. Funk JA, Davies PR and Nichols MA. The effect of faecal sample weight on detection of *Salmonella enterica* in swine feces. J Vet Diagn Invest. 2000; 12, 412-8.
76. Futagawa-Saito K, Hiratsuka S, Kamibeppu M, Hirose T, Oyabu K, Fukuyasu T. *Salmonella* in healthy pigs: prevalence, serotype diversity and antimicrobial resistance observed during 1998-1999 and 2004-2005 in Japan. Epidemiol Infect. 2008; 136: 1118-23.
77. García-Feliz C, Collazos JA, Carvajal A, Herrera S, Echeita MA, Rubio P. Antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* isolates from apparently healthy and clinically ill finishing pigs in Spain. Zoonoses Public Health. 2008; 55: 195-205.
78. García-Feliz C, Collazos JA, Vidal AB, Aladueña A, Ramiro R, de la Fuente M, *et al.* *Salmonella enterica* infections in Spanish swine fattening units. Zoonoses Public Health. 2007; 54: 294-300.
79. Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT. *Salmonella*. En: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd edition. U.S.A. Ed. Springer. 2005, vol.2, p. 764-99.

80. Gebreyes WA, Altier C. Molecular characterization of multidrug-resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium isolates from swine. J Clin Microbiol. 2002; 40: 2813-22.
81. Gebreyes WA, Davies PR, Morrow WE, Funk JA, Altier C. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates from swine. J Clin Microbiol. 2000; 38: 4633-6.
82. Gebreyes WA, Davies PR, Turkson PK, Morrow WE, Funk JA, Altier C, *et al.* Characterization of antimicrobial-resistant phenotypes and genotypes among *Salmonella enterica* recovered from pigs on farms, from transport trucks, and from pigs after slaughter. J Food Prot. 2004; 67: 698-705.
83. Gebreyes WA, Thakur S, Morrow WE. Comparison of prevalence, antimicrobial resistance, and occurrence of multidrug-resistant *Salmonella* in antimicrobial-free and conventional pig production. J Food Prot. 2006; 69: 743-8.
84. Giannella RA. *Salmonella*. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 21. [Online]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8435/>
85. Gradassi M, Zanoni M, Salogni C, Tagliabue S, D'Incau M, Bertasi B, *et al.* Phagotyping, ribotyping and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* Typhimurium isolated from Italian Heavy pigs at slaughter. Proceedings of the International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis. France. 2010, p.275-6.

86. Griffith RW, Schwartz KJ, Meyerholdz DK. *Salmonella*. En: Diseases of Swine. New Jersey, USA. 10 th edition. Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, Taylor DJ (eds.). Wiley-Blackwell Publishing. 2012, p. 739-54.
87. Grimont PAD y Weill FX. Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars, 9th edition. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Institute Pasteur, Paris, France. 2007, p. 1-166.
88. Hauser E, Hebner F, Tietze E, Helmuth R, Junker E, Prager R, *et al.* Diversity of *Salmonella enterica* serovar Derby isolated from pig, pork and humans in Germany. Int J Food Microbiol. 2011; 151: 141-9.
89. Hölzel C, Bauer J. *Salmonella* spp. in Bavarian liquid pig manure: occurrence and relevance for the distribution of antibiotic resistance. Zoonoses Public Health. 2008; 55: 133-8.
90. Huang TM, Lin TL, Wu CC. Serovar distribution and antimicrobial susceptibility of swine *Salmonella* isolates from clinically ill pigs in diagnostic submissions from Indiana in the United States. Lett Appl Microbiol. 2009; 48: 331-6.
91. Huong LQ, Le Bar C, Jouy E. Analysis of antimicrobial resistance among *Salmonella* strains isolated from pig origin in Vietnam. Proceedings of the International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis. France. 2010. p.193.

92. Hurd HS, McKean JD, Griffith RW, Wesley IV, Rostagno MH. *Salmonella enterica* infections in market swine with and without transport and holding. *Appl Environ Microbiol.* 2002; 68: 2376-81.
93. Hurd HS, Mckean JD, Wesley IV, Karriker LA. The effect of lairage on *Salmonella* isolation from market swine. *J Food Prot.* 2001; 64: 939-44.
94. Hurd HSJD, McKean RD, Griffith and Rostagno MH. Estimation of the *Salmonella enterica* prevalence in finishing pig. *Epidemiol Infect.* 2004; 132: 127-35.
95. Ibar MP. Colonias bacterianas compatibles con *Salmonella* spp. 2014. (Imágen no publicada).
96. Ibar MP, Vigo G, Piñeyro P, Caffer MI, Quiroga P, Perfumo, CJ, *et al.* Serovariedades de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* en porcinos de faena y su resistencia a los antimicrobianos. *Rev Arg Microbiol.* 2009; 41: 156-62.
97. Johnson JM, Rajic A, McMullen LM. Antimicrobial resistance of selected *Salmonella* isolates from food animals and food in Alberta. *Can Vet J.* 2005; 46: 141-6.
98. Junod T, Lopez – Martín J, Gädicke P. Estudio de susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella enterica* en muestras de origen animal y alimentario. *Rev Med Chile.* 2013; 141: 298-304.

99. Kaszanyitzky EJ, Tarpai A, Jánosi S, Papp M, Skáre J, Semjén G. Development of resistance monitoring system in Hungary. *Acta Vet Hung.* 2002; 50: 189-97.
100. Khakhria R, Woodeard D, Johnson WM, Poppe C. *Salmonella* isolated from humans, animals and other sources in Canada, 1982-92. *Epidemiol Infect.* 1997; 119: 15-23.
101. Kich DJ, Coldebella A, Morés N, Gomes Nogueira M, Cardoso M, Fratamico MP, *et al.* Prevalence, distribution, and molecular characterization of *Salmonella* recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil. *Int J Food Microbiol.* 2011; 151: 307-13.
102. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenber PC, Winn W.C. *Diagnóstico Microbiológico*. 5th ed. Editorial Médica Panamericana S.A. Springer. Buenos Aires. 1999. Capítulo: Enterobacteraceae, p. 171-250.
103. Korsak N, Jacob B, Groven B, Etienne G, China B, Ghafir Y, *et al.* *Salmonella* contamination of pigs and porks in an integrated pig production system. *J Food Prot.* 2003; 66: 1126-33.
104. Kranker S, Alban L, Boes J, Dahl J. Longitudinal study of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infection in three Danish farrow-to-finish swine herds. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 2282-8.

105. Kuronen H, Pohjanvirta T, Hakola S, Kauko T, Siitonen A, Ruoho O, *et al.* Feed-borne outbreak of *Salmonella* Tennessee in laying hen holdings and pig herds in Finland. Proceedings of the International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis. France. 2010, p. 241-3.
106. Larkin C, Poppe C, McNab B, McEwen B, Mahdi A, Odumeru J. Antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from hog, beef and chicken carcass samples from provincially inspected abattoirs in Ontario. J Food Prot. 2004; 67: 448-55.
107. Le Corre CH, Yves DP, Perrin M, France TM and Loup AJ. Increasing incidence and comparison of nalidixic acid-resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Typhimurium isolates from humans and animals. J Clin Microbiol. 1999; 37: 266-9.
108. Letellier AS, Messier J, Pare J, Menard and Quessy S. Distribution of *Salmonella* in pig herds in Quebec. Vet Microbiol. 1999; 67: 299-306.
109. Lynne AM, Kaldhone P, David D, White DG, and Foley SL. Characterization of Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serotype Heidelberg isolated from food animals. Foodborne Pathog Dis. 2009; 6: 207-15.
110. Lo Fo Wong DMA, Hald T, van der Wolf PJ, Swanenburg M. Epidemiology and control measures for *Salmonella* in pigs and pork. Livest Sci. 2002; 76: 215.
111. Loynachan AT, Nugen JM, Erdman MM, Harris DL. Acute infection of swine by various *Salmonella* serovars. J Food Prot. 2004; 67: 1484-8.

112. Magistrali A, Dionisi AM, De Curtis P, Cucco L, Vischi O, Scuota S, *et al.* Contamination of *Salmonella* spp. in a pig finishing herd, from the arrival of the animals to the slaughter-house. *Res Vet Sci.* 2008; 85: 204-7.
113. Mainar-Jaime, Atashparvar N, Chirino-Trejo M, Rahn K. Survey on *Salmonella* prevalence in slaughter pigs from Saskatchewan. *Can Vet J.* 2008; 49: 793-6.
114. Malorny B, Hoorfar J, Bunge C, Helmuth R. Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: towards an international standard. *Appl Environ Microbiol.* 2003; 69: 290-6.
115. Mannion C, Fanning J, McLernon J, Lendrum L, Gutierrez M, Duggan S, *et al.* The role of transport, lairage and slaughter processes in the dissemination of *Salmonella* spp. in pigs in Ireland. *Food Res Int.* 2012; 45: 871-9.
116. Mc Erlean BA. A further outbreak of *Salmonella* Dublin meningitis in piglets. *Ir Vet J.* 1969; 23: 10-1.
117. Mejía Silva WJ. Epidemiología de la salmonelosis porcina en granjas de Cataluña y determinación de los factores de riesgo de la infección. [tesis doctoral] Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. 2003.
118. Mejía W, Casal J, Zapata D, Sánchez GJ, Martín M, Mateu E. Epidemiology of *Salmonella* infections in pig units and antimicrobial susceptibility profiles of the strains of *Salmonella* species isolated. *Vet Rec.* 2006; 159: 271-6.

119. Methner U, Fehlhaber K, Rosler U and Rammler N. *Salmonella* status of pigs at slaughter – bacteriological and serological analysis. Proceedings IPVS *Salmonella* and Salmonellosis. 2010, p. 273-4.
120. Mevius DJ, Veldman KT, van der Giessen A, van Leeuwen WJ. Preliminary results of antibiotic resistance monitoring in the Netherlands. Tijdschr Diergeneeskd. 2000; 125: 143-6.
121. Michael GB, Cardoso M, Schwarz S. Molecular analysis of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Agona isolated from slaughter pigs. Vet Microbiol. 2006; 10; 112: 43-52.
122. Michael GB, Cardoso M, Schwarz S. Molecular analysis of multiresistant porcine *Salmonella enterica* subsp *enterica* serovar Bredeney isolates from Southern Brazil: identification of resistance genes, integrons and a group II intron. Int J Antimicrob Agents. 2008; 32: 120-9.
123. Molla B., Berhanu A., Muckle A., Cole L., Wilkie E., Kler J, *et al.* Multidrug resistance and distribution of *Salmonella* serovars in slaughtered pigs. J Vet Med. 2006; 53: 28-33.
124. Moreno MA, Domínguez L, Teshager T, Herrero IA, Porrero MC. Antibiotic resistance monitoring: the Spanish programme. The VAV Network. Red de vigilancia

de resistencias antibióticas en bacterias de origen veterinario. *Int J Antimicrob Agents*. 2000; 14: 285-90.

125. Mulder RWAW. Impact of transport and related stresses on the incidence and extent of human pathogens in pigmeat and poultry. *J Food Saf*. 1995; 15: 239-46.

126. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals; approved standard – fourth edition. 2013; VET01-A4. Wayne, PA, USA.

127. Nicolet J. *Salmonella*. En: Compendio de bacteriología veterinaria. Zaragoza, España. Ed. Acribia S.A. 1986, cap. 1, p. 16-29.

128. Nosedá RP, Bigalli MC, Andrich MG, Cordiviola JM, Bardón JC, Martínez AH, *et al*. Aislamiento de *Salmonella* en muestras clínicas humanas, animales y alimentos durante 1988 y 2001. *Vet Arg*. 2002; 19: 752-59.

129. OIE. Salmonellosis. OIE Terrestrial Manual. Chapter 2.9.9. 2008; p. 1268-83.

130. Ogasawara N, Tran TP, Ly TL, Nguyen TT, Iwata T, Okatani AT, *et al*. Antimicrobial susceptibilities of *Salmonella* from domestic animals, food and human in the Mekong Delta, Vietnam. *J Vet Med Sci*. 2008; 70: 1159-64.

131. Oliveira CJ, Carvalho LF, Fernandes SA, Tavechio AT, Menezes CC, Domingues FJ Jr. Antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from slaughter-age pigs and environmental samples. *Microb Drug Resist*. 2002; 8: 407-11.

132. Oloya J, Theis M, Doetkott D, Dyer N, Gibbs P, Khaita ML. Evaluation of *Salmonella* occurrence in domestic animals and humans in North Dakota (2000-2005). *Foodborne Pathog Dis.* 2007; 4: 551-63.
133. Papotto D. Producción porcina en Argentina, pasado, presente y futuro. V° Congreso de Producción Porcina del Mercosur, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. 2006, p.1-7.
134. Parada, J, Carranza AI, Pichel M, Tamiozzo PJ, Pelliza BR, Ambrogi A. *Salmonella* transmission from the gilt to her offspring. *Livest Sci.* 2013; 157: 605-61.
135. Parada J. Detección y caracterización de *Salmonella* en cerdos y su comparación con aislamientos en humanos en Argentina. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Río Cuarto. 2014.
136. Paulin SM, Watson PR, Benmore AR, Stevens MP, Jones PW, Villarreal-Ramos B, *et al.* Analysis of *Salmonella enteric* serotype-host specificity in calves: avirulence of *S. enterica* serotype Gallinarum correlates with bacterial dissemination from mesenteric lymph nodes and persistence in vivo. *Infect immun.* 2002; 70: 6788-97.
137. Perfumo CJ, Machuca M, Cappuccio J, Piñeyro P, Quiroga A, Vigo G. Situación actual de las enfermedades que afectan la producción porcina en la Argentina. Cuadros digestivos asociados a *Salmonella* spp. y *Lawsonia intracellularis*. V° Congreso de Producción porcina del Mercosur, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. 2006; p 221-2.

138. Perfumo, CJ. Neumonías Porcinas: etiologías y patologías. [tesis doctoral] Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP; 1980.
139. Perron GG, Bell G, Quessy S. Parallel. Evolution of multidrug-resistance in *Salmonella enterica* isolated from swine. FEMS Microbiol Lett. 2008; 281: 17-22.
140. Pocurull DW, Gaines SA, Mercer HD. Survey of infectious multiple drug resistance among *Salmonella* isolated from animals in the United States. Appl Microbiol. 1971; 21: 358-62.
141. Pulse Net International. The international molecular subtyping Network for foodborne disease surveillance. 2015. [Online] <http://www.pulsenetinternational.org>
142. Rajic A, Keenlside J. *Salmonella* in Swine. Advances in Pork Production. 2001; 12: 35-40.
143. Rajic A, McFall ME, Deckert AE, Reid-Smith R, Manninen K, Poppe C, *et al.* Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from finishing swine and the environment of 60 Alberta swine farms. Vet Microbiol. 2004; 104: 189-96.
144. Reynolds IM, Miner PW, Smith RR. *Salmonella* Enteritidis from meningitis. A case report. Cornell Vet. 1967; 50: 180-5.
145. Ribot EM, Fair MA, Gautom R, Cameron DN, Hunter SB, *et al.* Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of *Escherichia coli*

---

O157:H7, *Salmonella*, and *Shigella* for PulseNet. Foodborne Pathog Dis. 2006; 3: 59-67.

146. Romani C, Aleo A, Pellissier N, Viganó A, Pontello M. Characterization of multi-drug resistance in *Salmonella* strains isolated from animals. Ann Ist Super Sanita. 2008; 44: 292-300.

147. Rosengren LB, Waldner CL, Reid-Smith RJ, Checkley SL, McFall ME, Rajic A. Antimicrobial resistance of fecal *Salmonella* spp. isolated from all phases of pig production in 20 herds in Alberta and Saskatchewan. Can J Vet Res. 2008; 72: 151-9.

148. Rostagno MH, Hurd HS, and Mc Kean JD. *Salmonella enterica* prevalence and serotype distribution in pig at slaughter. In: Proceedings of the 7th International Symposium on the Epidemiology and Control of Food-borne Pathogens in Pork. Verona, Italy. 2007; 153-5.

149. Rostagno MH, Hurd HS, Mekean JD. Bacteriological and serological *Salmonella* prevalence in finishing pigs. Proceedings of the 18th IPVS Congress, Hamburg, Germany, 2004, p. 649.

150. Rowe, T., Leonard, N., Kelly, G., Lynch, P. B., Egan, J., Quirke, A-M., *et al.* Prevalence of infection with *Salmonella* in Irish pigs farms. Proceedings of the 4th International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* and other Foodborne Pathogens in Pork, Leipzig, Germany. 2001; 192-4.

151. Salmon DE, Smith T. The bacterium of swine plague. *Am Mongr Microbiol J.* 1886; 204.
152. Salve A, Binsztein N, Viñas M, Terragno R, Caffer MI, Alvarez R, *et al.* Brotes de transmisión alimentaria causados por *Salmonella* Typhimurium en Argentina. Memorias del III Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos. Buenos Aires, Argentina. 2006. C15.
153. Salyers AA y Whitt DD. Virulence factors that promote colonization. En: *Bacterial pathogenesis: a molecular approach.* 1st Edition. Washington DC, USA. Ed. ASM. 1994, cap 3, p. 30-46.
154. Sanchez J, Dohoo IR, Christensen J, Rajic A. Factors influencing the prevalence of *Salmonella* spp. in swine farms: A meta-analysis approach. *Prev Vet Med.* 2007; 81: 148-77.
155. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (SAGPYA). Perspectivas de oferta y demanda para el año 2007. Informe de mercado porcino. 2006. [Online] <http://www.sagpya.mecon.gov.ar>
156. Seyfarth AM, Wegener HC, Frimodt-Møller N. Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium from humans and production animals. *J Antimicrob Chemother.* 1997; 40: 67-75.

157. Sorensen LL, Alban L, Nielsen B, and Dahl J. The correlation between *Salmonella* serology and isolation of *Salmonella* in Danish pigs at slaughter. *Vet Microbiol.* 2004; 101: 131-41.
158. Swaneburg MHA, Urlings JM, Snijders DA, Keuzenkamp and van Knapen F. *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence serotypes and critical control points during slaughter in two slaughter houses. *Int J Food Microbiol.* 2001; 70: 243-54.
159. Takahashi T, Asai T, Kojima A, Harada K, Ishihara K, Morioka A, *et al.* Present situation of national surveillance of antimicrobial resistance in bacteria isolated from farm animals in Japan and correspondence to the issue. *Kansen shigaku Zasshi.* 2006; 80: 185-95.
160. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, *et al.* Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol.* 1995; 33: 2233-9.
161. Terzolo HR. Zoonosis bacterianas y alimentos, En: *Temas de Zoonosis y Enfermedades Emergentes.* Buenos Aires, Argentina. 1998, cap. 1, p. 72-5.
162. Thorsteinsdottir TR, Kristinsson KG, Gunnarsson E. Antimicrobial resistance and serotype distribution among *Salmonella* spp. in pigs and poultry in Iceland, 2001-2005. *Microb Drug Resist.* 2007; 13: 295-300.

163. Threlfall EJ. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and waterborne infections. FEMS Microbiol Rev. 2002; 26:141-8.
164. Threlfall EJ, Ward LR, Frost JA, Cheasty T, Geraldine A, Willshaw GA. The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria. J Food Microbiol. 2000; 62: 1-5.
165. Threlfall EJ, Frost JA, Ward LR and Rowe B. Epidemic in cattle and humans of *Salmonella* Typhimurium DT104 with chromosomally integrated multiple drug resistance. Vet Rec. 1994; 134:577.
166. Threlfall EJ, Ward R, and Rowe B. Increasing incidence of resistance to trimethoprim and ciprofloxacin in epidemic *Salmonella* Typhimurium DT104 in England and Wales. Euro Surveill. 1997; 2: 81-4.
167. Turnbull PCB. Food poisoning with special reference to *Salmonella* – its epidemiology, pathogenesis, and control. Clin Gastroenterol. 1979; 8, 663-713.
168. United States Department of Agriculture Animal and Plant Health Inspection Service (USDA-APHIS). *Salmonella* on U.S. swine sites – Prevalence and antimicrobial susceptibility. InfoSheet. 2009.
169. Usera MA, Aladueña A, Gonzalez R, De la Fuente M, García-Peña J, Frías N. Antibiotic resistance of *Salmonella* spp. from animal sources in Spain in 1996-2000. J Food Prot. 2002; 65: 768-73.

170. Van der Wolf PJ, Peperkamp NH. *Salmonella* serotypes and their resistance patterns in pig faecal and post-mortem samples. *Vet Q.* 2001b; 23: 175-81.
171. Van der Wolf PJ, Wolbersa WB, Elbersa ARW, van der Heijdenb HMJF, Koppena JMCC, Hunnemana WA, *et al.* Herd level husbandry factors associated with the serological *Salmonella* prevalence in finishing pig herds in The Netherlands. *Vet Microbiol.* 2001a; 78: 205-19.
172. Van der Wolf PJ, Bongers JH, Elbers ARW, Franssen FMCM, Hunneman WA, van Exsel ACA, *et al.* *Salmonella* infections in finishing pigs in The Netherlands: bacteriological herd prevalence, serogroup and antibiotic resistance of isolates and risk factors for infection. *Vet Microbiol.* 1999; 67: 263-75.
173. Vico JP, Rol I, Garrido V, San Roman B, Grillo MJ, Mainar-Jaime RC. Salmonellosis in finishing pigs in Spain: Prevalence, antimicrobial agent susceptibilities, and risk factor analysis. *Journal of Food Protection.* 2011; 1070-8.
174. Vico JP, Zogbi AP, Mariani A, Rosmini M, Aleu G, Zabaletta G, Mainar Jaime R. Estudio epidemiológico de *Salmonella* spp. en cerdos de la provincia de Córdoba. XV Jornadas de Divulgación Técnico Científicas – II Jornadas Latinoamericanas. 2014. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina.
175. Vigo G, Cappuccio J, Piñeyro P, Solve A, Machuca M, Quiroga MA, *et al.* *Salmonella enterica* subclinical infection. Bacteriological, serological, PFGE and

antimicrobial resistance profiles longitudinal study in a three site farrow to finish farm. *Foodborne Pathog Dis.* 2009; 6: 965-72.

176. Vigo G, Leotta G, Caffer MI, Sanguinetti H, Piñeyro P, Capuccio J, *et al.* An outbreak of *Salmonella* serovar Typhimurium in pigs in a farrow with persistent PCV-2 associated diseases. Proceedings of the 2do Congreso Latinoamericano de Suinicultura. 2004 oct 20-22, Foz de Iguazu, Brasil. 2004; p. 505.

177. Vigo G, Moredo F, Cappuccio J, Piñeyro P, Caffer MI, Perfumo C. Frecuencia, serovariedades y sensibilidad antimicrobiana de *Salmonella* spp. en cerdos faenados provenientes de una granja con presentación clínica de infección. Vº Congreso de Producción Porcina del MERCOSUR. Río Cuarto, Córdoba, Argentina. 2006; p. 282.

178. Villamil A, González G, Ruiz A. Clonal diversity of *Salmonella* spp. strains isolated from Chilean swine farms. Proceedings of the 22nd International Pig Veterinary Society Congress (IPVS), Korea. 2012, p. 173.

179. Vo AnTT, van Duijkeren E, Gaastra W, Fluit AC. Antimicrobial Resistance, Class 1 Integrons, and genomic Island 1 in *Salmonella* isolates from Vietnam. *Antimicrob Resist.* 2010; 5: 1-8.

180. Vo ATT, van Duijkeren E, Fluit AC, Heck MEOC, Verbruggen A, Maas HME, *et al.* Distribution of *Salmonella enterica* serovars from humans, livestock and meat in Vietnam and the dominance of *Salmonella* Typhimurium Phage Type 90. *Vet Microbiol.* 2006; 113: 153-8.

181. Wall PG, Threlfall L, Ward R, and Rowe B. Multiresistant *Salmonella* Typhimurium DT104 in cats: a public health risk. *Lancet*. 1996; 348-71.
182. Warris PD. Animal welfare. Handling animals before slaughter and the consequences for welfare and product quality. *Meat Focus Int*. 1992; 1: 135-8.
183. Wegener HC, Hald T, Lo Fo Wong D, Madsen M, Korsgaard H, Bager F, *et al*. *Salmonella* control programs in Denmark. *Emerg Infect Dis*. 2003; 9: 774.
184. Weiss LHN, Nonig RB, Cardoso M, da Costa M. Ocorrência de *Salmonella* sp em suínos de terminação no Rio Grande do Sul. *Pesqui Vet Bras*. 2002; 22: 104-8.
185. Wells SJ, Fedorka-Cray PJ, Dargatz A, Ferris K, and Green A. Fecal shedding of *Salmonella* spp. by dairy cow son farm and at cull cow markets. *J Food Prot*. 2001; 64: 3-11.
186. White DG, Zhao S, Sudler R, Ayers S, Friedman S, Chen S, *et al*. The isolation of antibiotic-resistant *Salmonella* from retail ground meats. *Engl J Med*. 2001; 345: 1147-54.
187. Wilcock BP, Olander HJ. Neurologic disease in naturally occurring *Salmonella* Choleraesuis infection in pigs. *Vet Pathol*. 1977; 14: 113-20.

188. Williams LP, and Newell KW. Patterns of *Salmonella* excretion in market swine. Am J Public Health. 1967; 57: 466-71.
189. Wood RL, Pospischil A, Rose R. Distribution of persistent *Salmonella* Typhimurium infection in internal organs of swine. Am J Vet Res. 1989; 50: 1015-21.
190. World Health Organization (WHO). Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. 2001. [Online]. <http://www.who.int/drugresistance/SpGlobal2.pdf>
191. World Health Organization (WHO). Foodborne diseases, emerging. 2002. [Online] [http://www.wiredhealthresources.net/resources/NA/WHO-FS\\_FoodborneDiseases.pdf](http://www.wiredhealthresources.net/resources/NA/WHO-FS_FoodborneDiseases.pdf)
192. World Health Organization (WHO) Global Foodborne Infections Network (GFN). 2011. [Online] <http://www.who.int/gfn/supported/en/>
193. World Health Organization (WHO) *Salmonella* (non-typhoidal). 2013. [Online] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>
194. WHO. Global Salm-Surv, 2005: Progress Report 2000-2005. [Online] <http://www.who.int/salmsurv/links/GSSProgressReport2005.pdf>
195. World Health Organization (WHO) *Salmonella* Surveillance. 2015. [Online] <http://www.who.int/salmsurv>

196. Zaidi MB, McDermott PF, Fedorka-Cray P, Leon V, Canche C, Hubert SK, *et al.* Nontyphoidal *Salmonella* from human clinical cases, asymptomatic children, and raw retail meats in Yucatán, Mexico. *Clin Infect Dis.* 2006; 42: 21-8.

197. Zajac M, Wasyl D, Hoszowski A, Skarzynska M. Serovar prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from pigs. *Proceedings of the International Symposium Salmonella and Salmonellosis.* France. 2010, p. 261.

198. Zhao S, White G, Friedman L, Glenn A, Blickenstaff, Ayers L, *et al.* Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar Heidelberg isolates from retail meats, including poultry, from 2002 to 2006. *Appl Environ Microbiol.* 2008; 74: 6656-62.

## 6. ANEXOS

### 6.1. ANEXO 1

#### Calculo 1. Prevalencia de *Salmonella* spp.

Análisis bayesiano. Estimación de una proporción

Datos muestrales	Número	
Éxitos	8	
Fracasos	192	
Total	200	
Distribución beta	A priori	A posteriori
Parámetro a	1,0	9,0
Parámetro b	1,0	193,0
Media	0,50	<b>0,04</b>
Desviación estándar	0,29	0,01

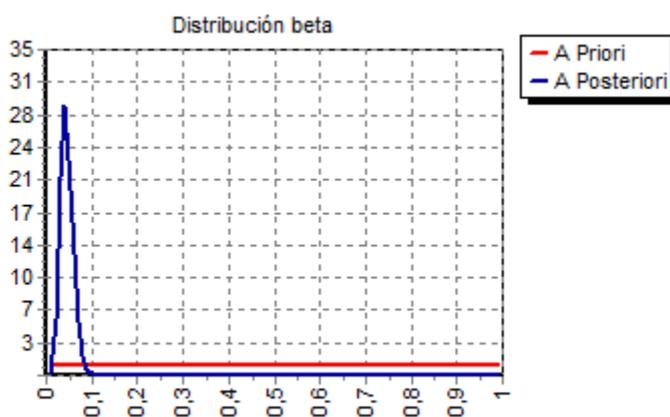


Figura 40. Distribución beta a priori y a posteriori en granjas

Área a la izquierda de los puntos elegidos

Punto	Área
-----	-----
0,500	1,000

Percentiles relevantes

Área	Percentil
-----	-----
0,025	0,021
0,050	0,024
0,100	0,027
0,250	0,034
0,500	0,043
0,750	0,053
0,900	0,064
0,950	0,071
0,975	0,077

Intervalo de máxima densidad que acumula el 95,0%

L. Inferior	L. Superior
-----	-----
0,018	0,073

Prevalencia = valor de la media x 100 (0,04 x 100) = **4%**.

## 6.2. ANEXO 2

Cálculo 2. Prevalencia de *Salmonella* spp. intergranjas.

Análisis bayesiano. Estimación de una proporción

Datos muestrales	Número	
Éxitos	3	
Fracasos		7
Total	10	
Distribución beta	A priori	A posteriori
Parámetro a	1,0	4,0
Parámetro b	1,0	8,0
Media	0,50	0,33
Desviación estándar	0,29	0,13

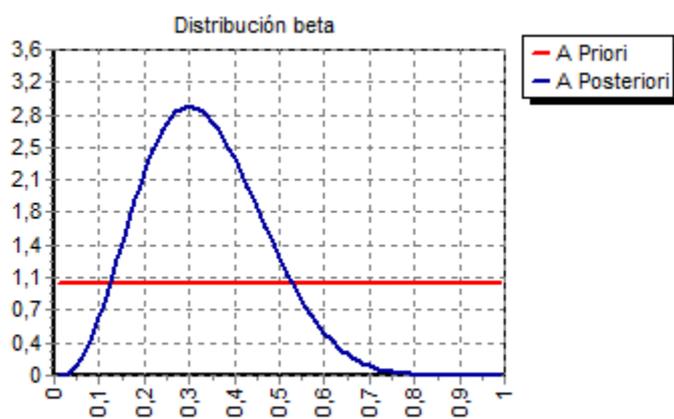


Figura 41. Distribución beta a priori y a posteriori de granjas positivas

Área a la izquierda de los puntos elegidos

Punto	Área
-----	-----
0,500	0,887

Percentiles relevantes

Área	Percentil
-----	-----
0,025	0,109
0,050	0,135
0,100	0,169
0,250	0,236
0,500	0,324
0,750	0,420
0,900	0,511
0,950	0,564
0,975	0,610

Intervalo de máxima densidad que acumula el 95,0%

L. Inferior	L. Superior
-----	-----
0,093	0,588

Prevalencia = valor de la media x 100 (0,33 x 100) = **33%**.

### 6.3. ANEXO 3

#### Calculo 3. Prevalencia de *Salmonella* spp. en frigoríficos

Análisis bayesiano. Estimación de una proporción

Datos muestrales	Número	
Éxitos	93	
Fracasos	293	
Total	386	
Distribución beta	A priori	A posteriori
Parámetro a	1,0	94,0
Parámetro b	1,0	294,0
Media	0,50	0,24
Desviación estándar	0,29	0,02

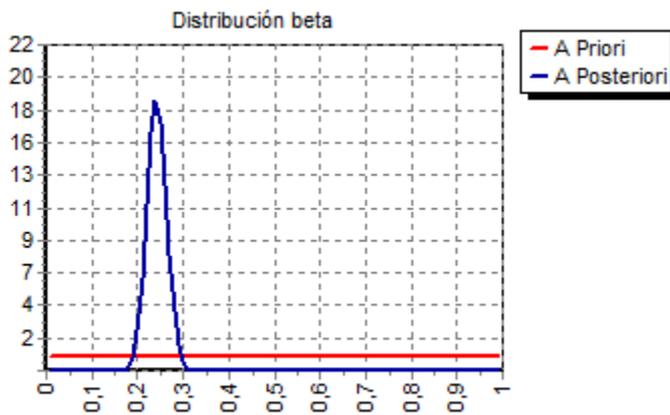


Figura 42. Distribución beta a priori y a posteriori en frigoríficos

Área a la izquierda de los puntos elegidos

Punto	Área
0,500	1,000

Percentiles relevantes

Área	Percentil
0,025	0,201
0,050	0,207
0,100	0,215
0,250	0,227
0,500	0,242
0,750	0,257
0,900	0,270
0,950	0,279
0,975	0,286

Intervalo de máxima densidad que acumula el 95,0%

L. Inferior	L. Superior
0,200	0,285

Prevalencia = valor de la media x 100 (0,24 x 100) = **24%**.