



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Eficacia de la adición en el agua de bebida de cerdos de cebo de un ácido orgánico esterificado para el control de la excreción de *Salmonella* en matadero

Efficacy of the addition of an esterified organic acid to the drinking water of fattening pigs for the control of *Salmonella* shedding at the slaughterhouse

Autor/es

Iván Funes Oliver

Director/es

Raúl Carlos Mainar Jaime

Facultad de Veterinaria

2022/2023

Índice

1.	Resumen.....	3
2.	Introducción	4
2.1	Características generales de <i>Salmonella</i>	4
2.2	Taxonomía y nomenclatura	4
2.3	Salmonelosis porcina.....	6
2.3.1	Transmisión y patogenia.....	6
2.4	Situación actual de la salmonelosis humana en España y Europa	7
2.5	Estrategias de control de <i>Salmonella</i>	11
2.5.1	Estrategias relacionadas con la alimentación.....	13
2.5.2	Probióticos.....	14
2.5.3	Prebióticos.....	15
2.5.4	Extractos naturales de las plantas	16
2.5.5	Ácidos orgánicos.....	16
3.	Justificación y objetivos.....	21
4.	Metodología	22
4.1	Diseño del estudio.....	22
4.2	Producto utilizado	22
4.3	Muestreo y análisis laboratoriales	23
4.3.1	Bacteriología.....	23
4.3.2	Serología.....	24
4.4	Análisis estadísticos.....	24
5.	Resultados	25
5.1	Seroprevalencia individual y prevalencia en corrales en las explotaciones	25
5.2	Excreción de <i>Salmonella</i> en el matadero	26
6.	Discusión	27
7.	Conclusiones.....	30
8.	Valoración personal.....	31
9.	Bibliografía.....	32

1. Resumen

La salmonelosis es la segunda zoonosis de transmisión por alimentos más importante de la UE. El ganado porcino es una de las principales fuentes de salmonelosis humana. La infección por *Salmonella* es muy prevalente en las explotaciones de cebo porcino y los animales infectados son los responsables de la contaminación de las canales en el matadero. Los ácidos orgánicos son una estrategia de control a tener en cuenta pero los resultados obtenidos son muy variables, por lo que se hace necesario seguir evaluando su eficacia. En este estudio se investigó la eficacia de un ácido fórmico esterificado (MOLI-M C1, Molimen SL, Barcelona, España) administrado por vía oral en el agua durante los 5 días previos al sacrificio. Para ello se realizaron tres ensayos de campo en tres explotaciones porcinas diferentes que incluyeron un grupo tratamiento (GT) y un grupo control (GC), cada uno con 40 animales. En las tres explotaciones se observó una reducción de la excreción de *Salmonella* en el matadero en el GT comparado con el GC. La reducción global de excreción de *Salmonella* en matadero que se observó fue de un 30% comparando el grupo control (GC) con el grupo tratamiento (GT).

Abstract

Salmonellosis is the second most important food-borne zoonosis in the EU. Pigs are one of the main sources of human salmonellosis. *Salmonella* infection is very prevalent in pig fattening farms and infected animals are responsible for contamination of carcasses at the slaughterhouse. Organic acids are a control strategy to be considered, but the results obtained are very variable, so it is necessary to continue evaluating their efficacy. In this study, the efficacy of an esterified formic acid (MOLI-M C1, Molimen SL, Barcelona, Spain) administered orally through water during the 5 days prior to slaughter was investigated. For this purpose, three field trials were conducted in three different pig farms including a treatment group (TG) and a control group (CG), each with 40 animals. In all three farms, a reduction of *Salmonella* shedding at slaughter was observed in the TG compared to the CG. The overall reduction of *Salmonella* shedding at slaughter was 30% comparing the CG with the TG.

2. Introducción

2.1 Características generales de *Salmonella*

Salmonella es una bacteria de carácter zoonótico perteneciente al orden *Enterobacteriales* y a la familia *Enterobacteriaceae*. Se trata de una bacteria Gram negativa oxidasa negativa, catalasa positiva y con un metabolismo anaerobio facultativo. De forma bacilar, no produce esporos y no presenta cápsula. La mayoría de sus especies poseen flagelos peritricos por lo que las consideramos bacterias móviles (Casanova, 2019). Esta bacteria es capaz de sobrevivir en un amplio rango de pH diferentes (3,8-9,5), pero su pH óptimo está entre 6,5 y 7,5. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C aunque es capaz de proliferar entre 7°C y 48°C. También es capaz de crecer con actividades de agua (a_w) superiores 0,94 (Ryan, O'Dwyer y Adley, 2017).

Esta bacteria es la responsable de la enfermedad denominada salmonelosis, una infección que se puede presentar de dos formas distintas: tifoidea y no tifoidea. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2023, la salmonelosis tifoidea se caracteriza por ser una enfermedad infecciosa potencialmente mortal causada por *Salmonella* Typhi, cuya ruta de transmisión suele ser a través del agua o los alimentos contaminados. Esta salmonelosis puede llegar a causar síntomas como fiebres altas y prolongadas, cansancio, cefalea, náuseas, dolor abdominal, estreñimiento o diarrea e incluso erupciones cutáneas. A pesar de esto *S. Typhi* es específica del ser humano. Sin embargo, la salmonelosis no tifoidea se caracteriza por general principalmente problemas gastroentéricos (OMS, 2018). A esta última es a la que nos referiremos a lo largo de este trabajo.

2.2 Taxonomía y nomenclatura

Según métodos moleculares podemos diferenciar entre dos especies de *Salmonella*: *S. enterica* y *S. bongori*. A su vez, dividimos *S. enterica* en 6 subespecies adicionales: (I) *S. enterica* subsp. *enterica*, (II) *S. enterica* subsp. *salamae*, (IIIa) *S. enterica* subsp. *arizonae*, (IIIb) *S. enterica* subsp. *diarizonae*, (IV) *S. enterica* subsp. *houteanae* y (VI) *S. enterica* subsp. *indica*. A partir de estas subespecies clasificamos los diferentes serotipos según sus antígenos somáticos (O) y antígenos flagelares fase 1 y fase 2 (H) (Ryan, O'Dwyer y Adley, 2017).

Desde el punto de vista sanitario, la subespecie más importante es *S. enterica* subsp *enterica*, donde se encuentran hasta 2.639 serotipos diferentes entre los cuales se incluyen los más problemáticos y de interés clínico, como pueden ser *S. Choleraesuis*, *S. Enteritidis*, *S. Typhi*, *S. Paratyphi* y *S. Typhimurium*, etc. (Ryan, O'Dwyer y Adley, 2017). Los serotipos de la subespecie *S. enterica* subsp. *enterica* son los únicos que se nombran con un nombre propio, el resto de los serotipos que no pertenecen a esta subespecie se nombran por su formulación antigénica (Grimont y Weill, 2007).

Como podemos observar en la Figura 1, donde vemos un desglose de la nomenclatura de *Salmonella*, los serotipos en los cuales nos vamos a centrar son en aquellos no tifoideos que causan gastroenteritis y están transmitidos a través de los alimentos.

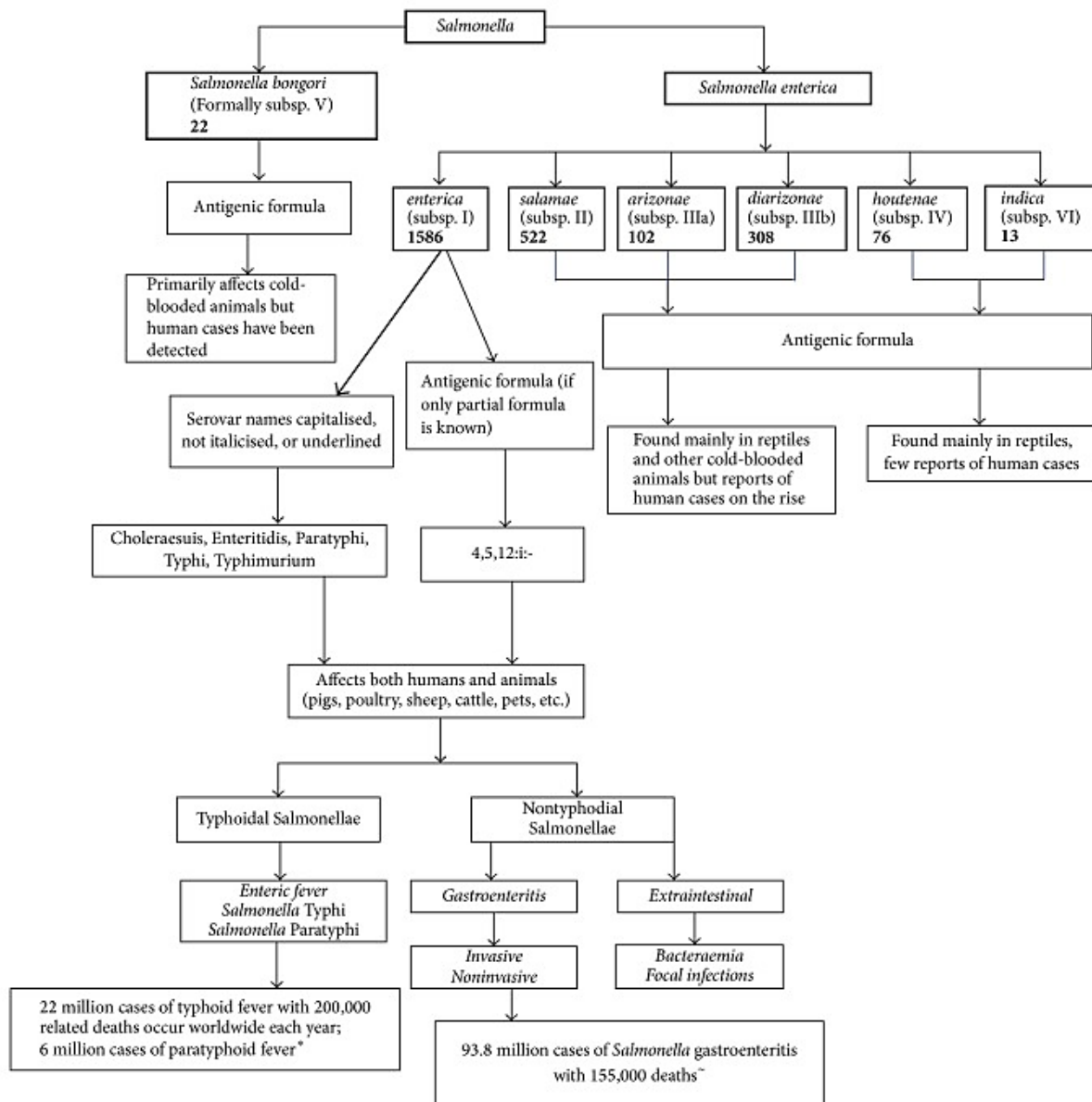


Figura 1. Taxonomía de *Salmonella* (Ryan, O'Dwyer y Adley, 2017).

2.3 Salmonelosis porcina

La infección por *Salmonella* en el cerdo tiene dos formas principales de presentación en función del serotipo que infecta. Por un lado existe una salmonelosis caracterizada por septicemia aguda (infección generalizada de la sangre y los órganos) con o sin diarrea. Está originada por el serotipo *S. Cholerasuis*, adaptado al cerdo y que en muy raras ocasiones infecta a otras especies animales o al ser humano. Esta infección es común en Norteamérica pero, de momento, de escasa incidencia en Europa (Zimmerman et al., 2019; Plonait y Bickhardt 2001).

Cuando la infección la provocan serotipos no adaptados (*S. Typhimurium*, *S. Rissen*, etc.), suele pasar desapercibida (asintomática) en la mayoría de los casos. En determinadas situaciones (animales jóvenes, inmunocomprometidos, etc.) Puede cursar con diarrea y excepcionalmente con septicemia. La salmonelosis asintomática es la más frecuente en Europa y en nuestro país.

2.3.1 Transmisión y patogenia

Además de por el serotipo, la severidad de la enfermedad en el cerdo va a estar influenciada por la virulencia de la cepa infectante, la ruta de infección y la dosis infectiva a la que se exponga el animal (Zimmerman et al., 2019). La virulencia va a estar relacionada con la capacidad de adhesión, invasión, citotoxicidad y la resistencia a la muerte celular que tenga el serotipo infectante (Zimmerman et al., 2019).

La adhesión e invasión celular puede producirse a lo largo de todo el yeyuno, íleo y ciego, pero las placas de Peyer, a través de las células M, resultan la entrada predominante de *Salmonella*. Al ser una bacteria intracelular facultativa, una vez llega a la lámina propia infecta a los macrófagos y neutrófilos transportando así la bacteria hasta los nódulos linfáticos mesentéricos. Este proceso va a provocar una reacción inflamatoria local ocasionando daño vascular con trombosis a lo largo de la lámina propia y la submucosa. Tras la infección, los animales excretarán la bacteria por las heces durante unos días (de 1 a 2 semanas), pero posteriormente *Salmonella* quedará acantonada principalmente en nódulos linfáticos mesentéricos y tonsilas, actuando el cerdo como portador no excretor (Zimmerman et al., 2019).

Algunos factores del hospedador también pueden favorecer la infección y transmisión de *Salmonella*, por ejemplo, un aumento del pH del tracto gastrointestinal y de la motilidad

intestinal. Esto es debido a que a causa del mayor pH gástrico, las bacterias tienen una mayor probabilidad de sobrevivir y alcanzar el intestino delgado y el ciego donde se replicarán. En el caso de que la motilidad intestinal esté aumentada la excreción de *Salmonella* será mayor y por lo tanto aumentará su transmisión. Además de estos factores, otros factores externos como el uso de antibióticos, también pueden incrementar las posibilidades de transmisión al provocar una alteración de la composición de la microbiota intestinal, lo que puede introducir una menor competición con *Salmonella*, dejando que esta prolifere con mayor facilidad (Zimmerman et al., 2019).

Salmonella puede permanecer latente durante toda la vida del animal en nódulos linfáticos mesentéricos y tonsilas. En futuras situaciones de estrés (transporte, espera previa al sacrificio), el animal podría comenzar un nuevo periodo de excreción. Esta situación tendría que ver con la liberación de catecolaminas inducirían un aumento del pH intestinal y un aumento de la motilidad creando, como ya se ha indicado, un ambiente favorable para la supervivencia y multiplicación de *Salmonella* en los tramos finales del intestino delgado y ciego (Zimmerman et al., 2019).

La transmisión se produce fundamentalmente por la vía feco-oral, de cerdo a cerdo, de la madre a los lechones, incluso a través de vectores mecánicos (moscas), o mediante el agua, el pienso o la cama de los animales. También cabe la posibilidad de que se produzca transmisión por aerosoles ya sea por contacto de nariz con nariz entre dos cerdos o con las bacterias vehiculizadas por el polvo (Zimmerman et al., 2019).

2.4 Situación actual de la salmonelosis humana en España y Europa

Según el informe emitido por la *European Food Safety Authority* (EFSA) y el *European Centre for Disease Prevention Control* (ECDC) publicado en 2022, *Salmonella* es la segunda causa de intoxicación alimentaria en la Unión Europea (UE) tras *Campylobacter*. La media de casos confirmados durante los últimos 5 años ha sido de 76.818, registrándose en el año 2021 un total de 60.050 casos. Lo cual equivale a 15,7 por cada 100.000 habitantes. En cuanto a brotes alimentarios, *Salmonella* se sitúa como el principal agente etiológico, responsable de al menos 773 brotes en 2021 que dieron lugar a 6.755 casos de enfermedad. Las fuentes principales de estos brotes fueron los huevos contaminados y sus productos en primer lugar, en segundo lugar

se agrupa un grupo muy heterogéneo de alimentos que lo denominaremos “alimentos mixtos¹”, productos de bollería en tercer lugar y en cuarto lugar tenemos la carne de cerdo y sus productos, dando un total de 14 brotes.

A pesar de haberse reducido inicialmente el número de casos, gracias principalmente a los programas nacionales de control de salmonelosis aviar iniciados en 2005, estadísticamente la tendencia actual es de estabilidad (EFSA y ECDC, 2022).

Los principales productos de origen animal involucrados en esta toxiinfección alimentaria son las aves (pavos y gallinas) y los cerdos. A la hora de analizar los alimentos dispuestos en el mercado podemos hacer la división de ellos en alimentos listos para el consumo y no listos para el consumo. En 2021 se obtuvieron unos resultados que indicaban que la carne y productos cárnicos provenientes del cerdo listos para su consumo reflejó un 0,82% de muestras positivas frente a un 0% en la carne y productos cárnicos de las aves. Esto representa un riesgo de infección de salmonelosis humana ya que estos productos se consumen sin realizar ningún tipo de tratamiento posterior que reduzca la carga bacteriana del alimento. En lo que respecta a alimentos que no están listos para su consumo la carne y productos de las aves se encuentra con un porcentaje mayor de muestras positivas que los provenientes de los cerdos (EFSA y ECDC, 2022).

Tabla 1. Comparación entre alimentos listos para el consumo y no listos para el consumo (EFSA y ECDC, 2022).

	Alimentos listos para el consumo		Alimentos no listos para el consumo	
	Nº de muestras analizadas	Nº de muestras positivas (%)	Nº de muestras analizadas	Nº de muestras positivas (%)
Carne y productos cárnicos de broilers	1.706	0 (0)	109.342	4.763 (4.4)
Carne y productos cárnicos de pavos	213	0 (0)	13.049	472 (3.6)
Carne y productos cárnicos de cerdos	8.014	66 (0.82)	135.711	2.050 (1.5)

¹ Alimentos mixtos incluye productos alimenticios destinados a usos nutricionales especiales (alimentos dietéticos), otros productos alimenticios procesados y platos preparados (platos a base de pescado, pasta, sushi), salsas y aderezos (mayonesa).

Los principales serotipos asociados con los casos de salmonelosis humana son *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* y la variante monofásica de *S. Typhimurium* (1,4,[5],12:i:-). Estos serotipos componen un 74,8% del total de los casos confirmados de salmonelosis humana en la UE en 2021. *S. Enteritidis* procedería principalmente de broilers y ponedoras, mientras que *S. Typhimurium* tendría su origen principalmente en broilers, cerdos, y en menor medida ponedoras y pavos. La principal fuente de la variante monofásica de *S. Typhimurium* serían los cerdos (Figura 2). En particular, el 28,7% de los aislados de *S. Typhimurium* y el 65,4% de los de su variante monofásica procederían del cerdo. Sin embargo, el 70% de los aislados de *S. Enteritidis* parecen proceder de los broilers. Otro serotipo que se aísla comúnmente de los cerdos es *S. Derby*, aunque este serotipo sería solo responsable del 0,65% de los casos reportados en Europa en 2021 (EFSA y ECDC, 2022) (Figura 2).

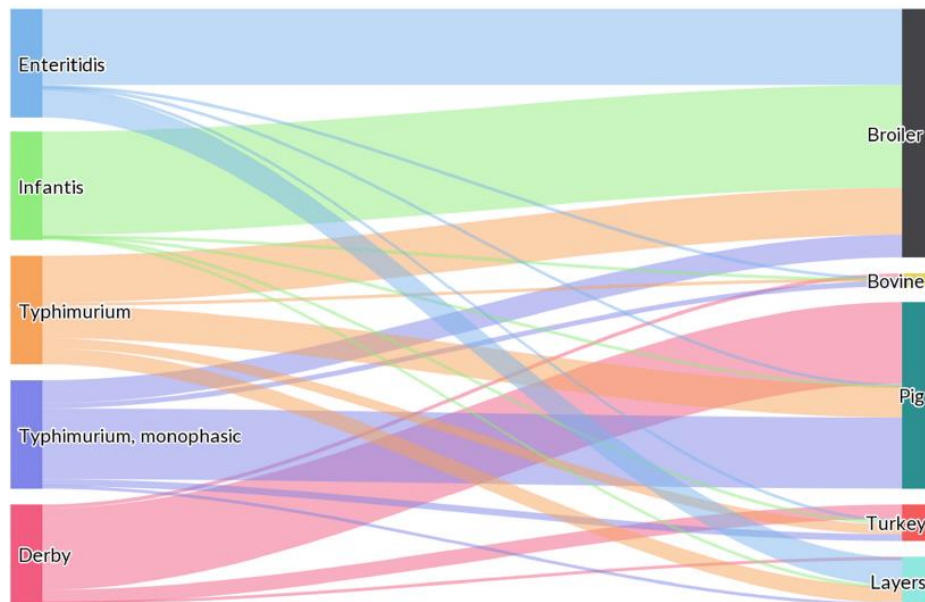


Figura 2. Diagrama de Sankey de la distribución de los cinco principales serotipos de *Salmonella* a nivel de la UE implicados en casos de salmonelosis humana adquiridos en la UE y notificados según el animal de origen (Fuente: EFSA, 2022).

En España en 2021 se confirmaron 3.913 casos de salmonelosis humana, lo que se corresponde con una tendencia a la baja como podemos observar en la Figura 3 (EFSA y ECDC, 2022). Estos datos son positivos pero sin embargo tenemos que seguir mejorándolos ya que según el informe publicado por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) en 2020, el 10,23% de la carne de aves y sus derivados y un 5,91% de carne de cerdo y sus derivados han sido positivas a *Salmonella* spp.

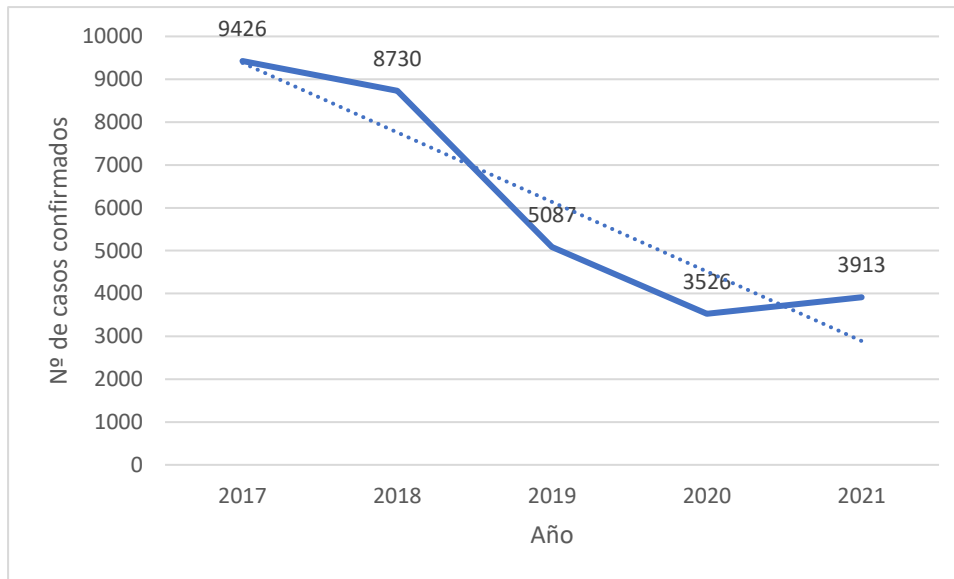


Figura 3. Evolución del número de casos confirmados de salmonelosis en España a lo largo de los años (EFSA y ECDC, 2022).

En España se ha observado en los últimos años una tendencia alcista de los casos de salmonelosis causados por el serotipo *S. Typhimurium* o su variante monofásica, mientras que los casos confirmados de *S. Enteritidis* se mantienen estables o incluso con una tendencia a la baja. A partir del año 2012 se pueden observar la aparición de casos de enfermedad causados por la variante monofásica de *S. Typhimurium* (Casanova Higes, 2019).

Según el informe epidemiológico sobre la situación de la Salmonelosis en España elaborado por la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) en 2022, los casos humanos de salmonelosis que se serotiparon, tanto en 2019 y 2020 en España, *S. Typhimurium* fue el mayor responsable, seguido de *S. Enteritidis*. Sin embargo, en esos años, de los brotes analizados, *S. Enteritidis* fue causante de más brotes que *S. Typhimurium* (69% y 31% respectivamente en 2019 y 100% y 0% respectivamente en 2020). El principal mecanismo de transmisión fue el consumo de alimentos contaminados, observándose una reducción de los brotes del 2019 al 2020 (de 213

brotos notificados descendimos a 76 brotes). Los principales alimentos implicados en los brotes estudiados fueron los huevos y la mayonesa registrando 86 brotes alimentarios en 2019 y 35 en 2020. Estos datos son significativamente menores que los observados los años previos, probablemente debido a la situación sanitaria que provocó la COVID-19.

Es interesante destacar que España figuraba en el año 2021, como el país con el mayor porcentaje de canales de porcino positivas a *Salmonella* (11,6%), según los muestreos de las autoridades competentes, seguida por Bélgica (6,2%), Irlanda (4,9%) e Italia (3,4%). En cuanto a las canales de broilers, este porcentaje será del 4,2%, lo que suponía estar por debajo de la mayoría del resto de países, encontrando a Chipre (29,5%), Italia (24,6%) y Croacia (20,9%) como los países con más porcentaje de canales positivas. En pavos, sin embargo, España volvía a figurar como el país con más porcentaje de canales positivas a *Salmonella* (34%), seguida de Italia (20,1%) y Hungría (4,9%) (EFSA y ECDC, 2022).

2.5 Estrategias de control de *Salmonella*

Sobre los años 50, debido a varios brotes alimentarios en Suecia relacionados con la contaminación de productos de origen animal, se empieza a tomar conciencia sobre la importancia del control de *Salmonella*, considerando a esta como una de las principales zoonosis que afectan negativamente a la Salud Pública. Así, Suecia fue el primer país europeo que inició un programa nacional de control en la producción porcina, avícola y de rumiantes cuyo objetivo fue el comercializar productos para consumo humano libres de *Salmonella* (Wierup, 2006).

La estrategia que llevaron a cabo en la producción fue la categorización de las explotaciones considerando las granjas libres de *Salmonella* cuando una explotación presentaba dos resultados bacteriológicos negativos en animales con intervalo de muestro de un mes. A las granjas positivas se les supervisaron los movimientos de animales y para concienciar a los ganaderos se les hacía asumir la mayoría de los costes preventivos y la mitad de los costes de erradicación de animales portadores (Casanova Higes, 2019).

Posteriormente, en el año 1992 se consideró que este problema se debía abordar desde los Estados Miembros de la UE con el fin de mejorar la prevención y control de las enfermedades zoonóticas. Las conclusiones que se obtuvieron a lo largo de los años fueron que las medidas se deben de llevar a cabo en toda la cadena de producción (respondiendo al termino “De la granja a la mesa”). Las medidas a aplicar se deben centrar en evitar la introducción de *Salmonella* en

las explotaciones, prevenir la transmisión entre los animales y aumentar la resistencia a la infección en los animales (EFSA, 2006).

El Reglamento (CE) Nº 2160/2003 estableció la necesidad de la puesta en marcha de programas específicos para la vigilancia y el control de infecciones zoonóticas como la salmonelosis. Sin embargo, han sido pocos los países de la UE que han desarrollado planes nacionales de control de *Salmonella* en porcino. Los países que iniciaron algún tipo de programa de control nacional fueron Suecia, Noruega, Finlandia, Dinamarca, Irlanda, Alemania, Inglaterra, Bélgica y Holanda. Entre estos, solo los países nórdicos han conseguido reducir significativamente la prevalencia de *Salmonella*, gracias a unos estrictos y costosos programas de erradicación. Sin embargo, las altas prevalencias y la dimensión del sector porcino en el resto de los países han impedido implantar planes de erradicación rentables sustituyéndolos por planes de vigilancia y control (Astorga, Argüello y Gómez, 2020).

La base principal de todos los controles que se han implantado en estos países ha consistido en un control y vigilancia realizado principalmente mediante análisis serológico mediante una técnica de ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*), con el objetivo de determinar el porcentaje de cerdos seropositivos a *Salmonella* en cada explotación, siendo capaces así de clasificar las explotaciones (mediante un criterio previamente establecido en los planes nacionales de control) en explotaciones de riesgo bajo (I), riesgo medio (II) y riesgo alto (III). Aquellas explotaciones que presenten niveles de riesgo medio o alto estarían obligadas a implementar una serie de actividades (medidas de higiene y desinfección, manejo animal, etc.) para su reducción (Astorga *et al.*, 2020). En algunos países (ej. Dinamarca), también se aplican penalizaciones económicas que alcanzan desde el 2% hasta un 8% del valor de la canal según el nivel serológico al que pertenezca la explotación. Por el contrario en otros países se trabaja mediante incentivos, creando marcas de calidad que hace que se les pague más a los ganaderos. Algunos de estos países son Alemania (QS Qualität und Sicherheit), Irlanda (Bord Bía Quality Assurance Scheme) y Holanda (IKB Nederland Varkens) (Creus Gibert, 2014).

Además de los controles a nivel de granja también se realizan controles en los mataderos sobre las canales, teniendo la obligación de emprender, en el caso de que salgan un excesivo número de canales positivas (los criterios quedan establecidos en el Reglamento (CE) nº 1441/2007 de la Comisión, de 5 de diciembre de 2007, que modifica el Reglamento (CE) nº 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios), medidas correctoras tales como mejoras en la higiene del sacrificio y revisión de los controles

del proceso, del origen de los animales y de las medidas de bioseguridad en las explotaciones de origen (Astorga, Argüello y Gómez, 2020).

Actualmente se ha llegado a la conclusión de que, a excepción de los países escandinavos, ningún plan de control ha sido capaz de realizar mejoras significativas en cuanto a la infección de *Salmonella* en granjas ni a reducir el número de casos de salmonelosis humana que estén relacionadas con el consumo de alimentos de origen porcino. Es por esto que la mayoría de los países han decidido suspender o modificar significativamente las características de sus planes nacionales, quedando Irlanda y Alemania los únicos países que actualmente sigue su plan de control en activo (incluyendo los países escandinavos que siguen con sus planes de erradicación) (Casanova Higes, 2019). En Alemania, tras más de 20 años de programa de control, se ha empezado a observar una reducción del número de explotaciones porcinas de alto riesgo (Anónimo, 2021).

A pesar de todo esto, el procedimiento a seguir para completar un plan de control consiste en implementar actividades cuyo objetivo sea la mejora de la situación sanitaria que previamente mediante serología se ha establecido en cada explotación. Existen diversas estrategias que se pueden llevar a cabo para reducir la prevalencia de *Salmonella*, pero se deben elegir las más óptimas según su facilidad de aplicación, su eficacia estimada y el coste esperado que le va a suponer a la explotación. Las estrategias que podemos implantar abarcan aspectos relacionados con la mejora del manejo de los animales, unas infraestructuras óptimas, unas buenas medidas higiénicas en la explotación, una buena bioseguridad externa e interna y también estrategias relacionadas con la alimentación (Mainar Jaime y Creus Gibert, 2018).

Los métodos de control basados en estrategias de alimentación serían complementarios a los anteriores. Dentro de estos se podrían destacar el tipo de alimento (harina grosera, alimentación líquida fermentada), el uso de probióticos, prebióticos, extractos naturales de las plantas y los ácidos orgánicos son las diferentes estrategias alimentarias que podemos usar para el control de *Salmonella* (Mainar Jaime y Creus Gibert, 2018).

2.5.1 Estrategias relacionadas con la alimentación

Características físicas del alimento

La forma de presentación del pienso juega un papel importante en el control de bacterias patógenas en el tracto gastrointestinal. Está demostrado que dietas no granuladas y con un

tamaño de partícula más grosero produce un efecto protector ante la infección de *Salmonella*. Esto es debido a los cambios fisicoquímicos y microbiológicos que se producen en el contenido estomacal. Principalmente, al usar este tipo de alimentación, se promueve una estratificación del contenido estomacal separándose la fase líquida y sólida que provocara un vaciamiento más lento de lo normal dando más tiempo a los ácidos gástricos para actuar. Este ambiente generado promueve también el establecimiento de poblaciones de bacterias ácido-lácticas provocando una mayor producción de ácidos resultantes del proceso de la fermentación y fenómenos de actividad competitiva. Por último, al haber una mayor presencia de carbohidratos no digeridos debido al mayor tamaño de partícula, se producirán cambios en las fermentaciones a lo largo de los tramos posteriores del intestino afectando a la mucosa intestinal (aumenta la profundidad de las criptas y la producción de mucinas) y a la concentración de ácido butírico (podría estimular el crecimiento de células epiteliales). A pesar de todos estos aspectos beneficiosos, esta estrategia no es viable ya que un aumento en el tamaño de la partícula del pienso conlleva una menor digestibilidad de este y por lo tanto una reducción de los índices productivos. Esto hace que se reduzca claramente su interés como medida de control de *Salmonella* (Creus Gibert, Andrés Barranco y Mainar Jaime, 2014a).

Alimentación líquida fermentada

La alimentación líquida ya fermentada se basa en mecanismos de otras estrategias ya que podemos considerar este tipo de alimentación como el uso de prebióticos y probióticos. Al estar la alimentación ya fermentada esta contiene numerosos ácidos orgánicos que van a ejercer los efectos de disminución del pH y establecer un ambiente favorable para la flora microbiana normal. Además, también contiene bacterias ácido-lácticas que ejercerán un efecto como probiótico (Creus Gibert, Andrés Barranco y Mainar Jaime, 2014a).

2.5.2 Probióticos

De acuerdo con el informe de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2002, los probióticos son microorganismos viables que, en cantidades adecuadas, son capaces de producir mediante diferentes mecanismos un ambiente hostil para las bacterias patógenas y por consiguiente

conseguir mejorar la salud intestinal de los animales. Los mecanismos por los cuales los probióticos son capaces de actuar contra *Salmonella* consisten en un incremento de los productos de fermentación, ya que estas bacterias en el intestino del animal van a llevar a cabo reacciones de fermentación. El ácido láctico y los ácidos grasos de cadena corta producidos van a provocar una bajada del pH intestinal lo cual va a dificultar la supervivencia de las bacterias patógenas a lo largo del intestino. Los probióticos son capaces de promover fenómenos de exclusión competitiva tanto de nutrientes como de receptores de adhesión a la mucosa intestinal (Gaggia, Mattarelli, y Biavati, 2010). Además, pueden producir compuestos antibacterianos como el agua oxigenada o bacteriocinas que van a inhibir el crecimiento de otras bacterias. Para finalizar, las bacterias probióticas, al interaccionar con la mucosa intestinal es posible que se produzca un efecto inmunoestimulador tanto a nivel de la mucosa como sistémico. Algunas de las especies que se pueden usar como probióticos son especies de *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* o *Saccharomyces* (Creus Gibert, Andrés Barranco y Mainar Jaime, 2014a).

2.5.3 Prebióticos

Los prebióticos son ingredientes no digeribles que tienen un efecto beneficioso para el hospedador mediante la estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de uno o varios tipos de microorganismos intestinales (de Lange et al., 2010). Estos deben de hidrolizarse o absorberse en el estómago o intestino delgado además de ser selectivos para las bacterias comensales beneficiosas del intestino grueso cuya fermentación debe tener efectos beneficiosos a nivel intestinal como sistémico. Los mecanismos mediante los cuales van a conseguir estas condiciones son similares a los probióticos ya que los prebióticos son capaces de promover el crecimiento de las bacterias beneficiosas, tras su fermentación, lo que provoca una bajada del pH (Gaggia, Mattarelli, y Biavati, 2010). Además, este crecimiento aumentará la actividad competitiva frente a *Salmonella*, proporcionará un efecto inmunoestimulador y mejorará las defensas del intestino. Los oligosacáridos no digeribles han demostrado *in vitro* e *in situ* una mayor actividad protectora frente a *Salmonella*. Mas concretamente los fructooligosacáridos, mananoligosacáridos, la inulina, los galactooligosacáridos, los transgalactooligosacáridos y la lactulosa (Creus Gibert, Andrés Barranco y Mainar Jaime, 2014a).

Los mananoligosacáridos son oligosacáridos no digeribles pertenecientes al grupo de las nutricinas ya que no son nutrientes de la flora bacteriana ni del animal pero aun así ejerce un

efecto beneficioso para la salud (Adams, 2000). Estas nutricinas pueden proceder de semillas de la palma de aceite, del algarrobo, de granos de café, levaduras etc. Al proceder de tantos orígenes diferentes su eficacia será muy variable debido al cambio de su composición biológica. Esto provoca que sea necesario que cada producto de mananoligosacáridos sea bien caracterizado y probado individualmente para determinar su verdadera eficacia para el control de salmonelosis porcina (Creus Gibert, Andrés Barranco y Mainar Jaime, 2014b).

Su mecanismo de acción, además de mejorar la salud del tracto gastrointestinal y una modulación de la respuesta inmunitaria del animal, se basa en el bloqueo de la capacidad de adhesión de la bacteria patógena al enterocito mediante su unión a las lectinas específicas de la manosa de las fimbrias tipo-1, expresadas por patógenos Gram-. Un ejemplo de mananoligosacárido que se puede usar para el control de la prevalencia y excreción de *Salmonella* en porcino sería un β -galactomanano derivado de la algarroba y cuya eficacia parece ser dosis-dependiente (Andrés Barranco et al., 2014).

2.5.4 Extractos naturales de las plantas

Los extractos de plantas del género *Alium*, como el ajo, la cebolla y el puerro, junto con los aceites esenciales procedentes principalmente del tomillo, orégano, clavo y canela han sido usados desde hace años como conservantes alimentarios y para el tratamiento de algunas infecciones lo que ha promovido que se plantee como una alternativa al uso de los antibióticos. El efecto antimicrobiano que poseen los extractos de plantas consiste en la combinación de los efectos de los distintos grupos funcionales que los forman (Creus Gibert, Andrés Barranco y Mainar Jaime, 2014b). Los efectos que pueden provocar son una alteración de la estructura y permeabilidad de la membrana citoplasmática, la alteración de la síntesis del ATP, un incremento de la respuesta inmunitaria y la interferencia con los sistemas de *quorum-sensing*, de formación de biofilms, de la esporulación y de la multiplicación (Mainar Jaime y Creus Gibert, 2018).

2.5.5 Ácidos orgánicos

La capacidad que tienen los ácidos orgánicos para promover un ambiente intestinal favorable para la flora bacteriana y su actividad antimicrobiana ha hecho que esta sea un estrategia de

control muy viable y a considerar para implantar en los planes de control de las explotaciones (Mainar Jaime y Creus Gibert, 2018).

Los mecanismo de acción que usan los ácidos orgánicos se basan en una reducción del pH extracelular, tras su disociación, creando un ambiente hostil para las bacterias patógenas. Este efecto produce un refuerzo de la barrera gástrica (por esa bajada de pH) y la proliferación de bacterias ácido-lácticas que producirán bacteriocinas y competirán con *Salmonella* por los nutrientes y receptores (de Lange et al., 2010). Este efecto se produce principalmente en el estómago y los tramos anteriores del intestino delgado debido a que los ácidos orgánicos se absorben en estos tramos primeros del intestino y difícilmente llegan a las partes finales de yeyuno, íleon y ciego (Creus Gibert, Andrés Barranco y Mainar Jaime, 2014a).

Además, el ácido puede llegar sin disociar hasta las bacterias patógenas, penetrar en su citoplasma y, tras su disociación en el interior, disminuir el pH intracelular provocando la muerte celular. La principal limitación de esta estrategia es que al absorberse en los tramos anteriores del intestino, el ácido no alcanza los tramos posteriores, que es donde se presenta principalmente *Salmonella*. Es por esto que se han desarrollado técnicas como la microencapsulación o la esterificación que permiten que parte del ácido sea capaz de llegar a los tramos posteriores del intestino y actuar a ese nivel (Tugnoli et al., 2020).

Un efecto adicional de ciertos ácidos (butírico y caprílico) es la reducción de la expresión de determinados genes de patogenicidad de *Salmonella* disminuyendo su capacidad para colonizar el epitelio (Casanova Higes, Andrés Barranco y Mainar Jaime, 2017).

A pesar de haber demostrado todos estos mecanismo de actuación existen resultados muy variables de su eficacia. Esto es debido a que existen muchas combinaciones de tratamientos que podemos administrar. Entre las variables a utilizar se encuentran los tipos de ácidos con sus diferentes combinaciones, la concentración de cada ácido utilizado, el periodo en el que se aplica el tratamiento y por último la vía de administración de este (Creus Gibert, Andrés Barranco y Mainar Jaime, 2014a).

Existen una multitud de ácidos orgánicos que usando combinaciones de ellos se observan mejores resultados frente a *Salmonella*. Principalmente los ácidos orgánicos de cadena corta que son los que más se usan por su efecto inhibitorio contra *Salmonella*. Sin embargo, parece que los ácidos de cadena media como el caprílico, caprílico y el cáprico podrían tener un efecto mayor que los de cadena corta (Kollanor et al., 2012). Una de las formas para administrar estos ácidos consiste en administrarlos en forma de sal, lo que facilita su manejo y dosificación ya que son

menos corrosivos y volátiles que los ácidos libres (Creus Gibert, Andrés Barranco y Mainar Jaime, 2014a).

Los ácidos usados en la conservación de los piensos se utilizan en concentraciones menores de 3 Kg/Tm. Sin embargo, para obtener buenos resultados sobre el control de *Salmonella* es necesario utilizar concentraciones de entre 15-20 Kg/Tm lo que incrementaría considerablemente el precio de estos piensos (Jensen et al., 2003). Por ello, decidir el periodo en el que se vayan a administrar es de vital importancia para evitar un excesivo coste económico.

Parece lógico administrar los ácidos durante el periodo final del engorde para tratar de reducir el número de cerdos excretores de *Salmonella* a la hora de ir a matadero. Hay que tener en cuenta que el efecto de los ácidos ocurre a nivel intestinal, por lo que no alcanzará a las bacterias acantonadas en nódulos linfáticos, por lo que no se reducirá el número de animales ya infectados.

Otra opción viable sería administrar los ácidos en las primeras semanas de engorde. Esto se realiza con el objetivo de reducir la infección entre los lechones recién entrados a los cebaderos ya que vienen de un periodo muy estresante, ya sea el destete o el transporte a una nueva explotación, y por lo tanto se producirá un aumento de la excreción de *Salmonella* de los animales previamente infectados promoviendo así la transmisión de la enfermedad entre el resto de los animales. Al administrar el ácido conseguiríamos reducir en cierta medida esta excreción de la que estamos hablando y por lo tanto se reduciría prevalencia de la bacteria en la explotación.

Algunos de los ejemplos de estudios que se han realizado sobre el uso de estos ácidos los podemos encontrar en la Tabla 2.

Eficacia de la adición en el agua de bebida de cerdos de cebo de un ácido orgánico esterificado para el control de la excreción de *Salmonella* en matadero

Tabla 2. Estudios sobre la eficacia de ácidos orgánicos en el ganado porcino.

Tipo de ensayo	Tratamiento (Concentración)	Duración	Modo de admin.	Fase	Resultados obtenidos	Referencia
Campo	Butirato de sodio protegido con grasa vegetal al 70% (3 Kg/Tm).	Todo el engorde	Pienso	Engorde	Reducción significativa tanto de la excreción como de la prevalencia de la enfermedad en matadero.	(Puyalto et al., 2015)
Campo	β -galactomanano (β -GMOS) (0,5 kg/Tm, 2 Kg/Tm y 3 Kg/Tm).	Todo el engorde	Pienso	Engorde	Dosis superiores a 2 Kg/Tm disminuyen significativamente la prevalencia de la infección y la excreción de <i>Salmonella</i> . Reducción de prevalencia es directamente proporcional a la dosis usada.	(Andrés Barranco et al., 2014)
Campo	Butirato de sodio protegido con sales de sodio de ácidos grasos destilados de coco (ácidos láurico, cáprico y caprílico) (3 Kg/Tm).	Todo el engorde	Pienso	Engorde	Disminución significativa de <i>Salmonella</i> en los nódulos linfáticos mesentéricos en matadero que causa una menor excreción en matadero.	(Casanova Higes, Andrés Barranco y Mainar Jaime, 2019)

Eficacia de la adición en el agua de bebida de cerdos de cebo de un ácido orgánico esterificado para el control de la excreción de *Salmonella* en matadero

Tabla 2. Continuación.

Tipo de ensayo	Tratamiento (Concentración)	Duración	Modo de admin.	Fase	Resultados obtenidos	Referencia
Campo (IE*)	6 dietas diferentes A1. Ácido butírico (1,3 g/Kg) A2. Ácidos fórmico y cítrico (2,44 g/Kg) A3. Ácidos fórmico, sórbico y ácido benzoico (2,7 g/Kg) A4. Ácidos fórmico, sórbico, acético, propiónico (2,92 g/Kg) A5. Ácidos caproico y caprílico (1,8 g/Kg) A6. Ácidos caproico, caprílico, láurico y láctico (1,91 g/Kg).	Desde el nacimiento hasta el sacrificio a los 34, 35 días	Pienso	Lechones de 21 a 35 días.	Los aditivos A4 y A3 redujeron significativamente la cantidad y duración de excreción de <i>Salmonella</i> .	(Michiels et al., 2012)
Campo	3 dietas diferentes A1. Ácido butírico (1,3 g/Kg) A4. Ácidos fórmico, sórbico, acético, propiónico (2,92 g/Kg) A5pA6. Ácidos caproico y caprílico, cáprico, láurico y láctico (3,71g/Kg).	Todo el engorde	Pienso	Engorde	La dieta A5pA6 redujo significativamente la prevalencia de <i>Salmonella</i> y la tasa de excreción en granja y matadero. Pudiéndose explicar por la dosis usada.	(Rasschaert et al., 2016)
Campo	Administración de ácido fórmico esterificado (3 g/Kg) en 7 lotes de matadero.	Una media de 14,5 horas en el matadero.	Agua	Matadero	Reducción global del 16%. De 7 lotes en 3 se observaron reducciones significativas. Asociado con el consumo de agua.	(Bernad Roche et al., 2022)

*Infección Experimental

3. Justificación y objetivos

La salmonelosis sigue siendo la segunda zoonosis de transmisión alimentaria en Europa siendo el cerdo la 2ª fuente más importante de infecciones a humanos. España es el país con un mayor número de canales de porcino positivas a *Salmonella* de los estados miembros de la Unión Europea (EFSA y ECDC, 2022), y la principal fuente de contaminación de las canales suele ser la presencia de cerdos excretores de *Salmonella* en el matadero (Beloeil et al., 2004; Argüello et al., 2013; Swart et al., 2016).

A pesar de todos los programas de control de *Salmonella* que se han implementado en explotaciones y mataderos en diferentes países, no se ha conseguido reducir significativamente la salmonelosis humana asociada al porcino. Tampoco se han encontrado una estrategia de control que por sí sola permita la reducción significativa de la infección en las granjas, probablemente debido a la gran cantidad de factores que interfieren en condiciones de campo (Casanova Higes, 2019). Por todo ello es necesario continuar trabajando en esta línea ya que los resultados son muy variables.

En un estudio previo, (Bernad Roche et al., 2022) observaron que la administración de un ácido fórmico esterificado en agua de bebida durante la espera al sacrificio en el matadero permitía reducir en un 16% la excreción de *Salmonella* de los cerdos allí alojados. Ello a pesar del escaso tiempo que los animales dispusieron para beber el agua tratada (unas 10 horas de media). Estos resultados parecían estar relacionados con la cantidad de agua consumida por los animales.

Con el presente estudio se trataba de comprobar si ese mismo ácido orgánico administrado durante un periodo de tiempo más largo y previamente al sacrificio de los animales podría ayudar a reducir la proporción de animales excretores de *Salmonella* en el matadero. Así, el objetivo de este estudio fue valorar la eficacia de la adición de un ácido fórmico esterificado en el agua de bebida para controlar la excreción de *Salmonella* en los animales en el momento previo al sacrificio.

4. Metodología

4.1 Diseño del estudio

Para este estudio se eligieron 3 explotaciones por la zona centro-este de Aragón, en la comarca de los Monegros, de empresas dispuestas a colaborar y que tuvieran al menos dos naves de cerdos de la misma edad y mismo origen. Las naves de estas explotaciones se distribuían en 2 pasillos con 40 cuadras por pasillo. El número de cerdos por corral era de 12-13. Los ensayos se realizaron entre los meses de mayo y noviembre de 2022.

Las explotaciones debían de ser seropositivas a *Salmonella*. Así, se realizó inicialmente un muestreo serológico representativo a partir de 30 cerdos de cada nave y aproximadamente un mes antes de la fecha de sacrificio, para valorar la seroprevalencia de la infección y determinar si las naves dentro de una explotación eran comparables, es decir, que no había grandes diferencias de seroprevalencia entre ellas en el momento de inicio de la prueba. Una nave se utilizó como grupo tratamiento (GT) y la otra como grupo control (GC). Siempre que se observó alguna diferencia de seroprevalencia entre las naves, se establecía como GT la que presentaba la mayor seroprevalencia. Además, para conocer mejor la situación de la que se partía se analizaron 10 muestras de *pooles* de heces de cada nave recogidas de 10 corrales diferentes al azar, tomando la muestra de varios puntos del corral.

4.2 Producto utilizado

Como tratamiento se utilizó un ácido fórmico (30% de ácido fórmico) esterificado en forma de mono-, di- y triglicérido con glicerol (MOLI-M C1, Molimen SL, Barcelona, España). Los ésteres de este ácido graso se encuentran dentro del catálogo de materias primas para piensos según el Reglamento (UE) N.º 68/2013 de la comisión de 16 de enero de 2013 relativo al catálogo de materias primas para piensos.

Este ácido se administró durante los 5 días previos al matadero con una dosis de 10 litros por cada 1000 litros de agua. El producto se administró a partir de una bomba dosificadora (AMS PLUS, EMEC). A pesar de que la dosis utilizada era alta (10 litros de producto/1000 L de agua) seguía muy por debajo del valor máximo de 12 g/Kg de ácido fórmico aprobado para su uso en cerdos en la UE (Luise et al., 2020).

4.3 Muestreo y análisis laboratoriales

Tras finalizar el tratamiento, los cerdos procedentes de las explotaciones participantes (tanto del GT y GC) eran identificados a su llegada al matadero. En la línea de eviscerado se recogió el tracto gastrointestinal de 40 animales de cada grupo. Inmediatamente y en el mismo matadero, se obtuvo de forma individual una muestra de heces del colon distal de cada animal para su cultivo bacteriológico en el laboratorio.

Los muestreos del GC y GT se realizaban en días consecutivos y siempre empezando por el GC para evitar que un mayor tiempo de exposición en la explotación afectara a los resultados de este grupo.

4.3.1 Bacteriología

El análisis laboratorial que se llevó a cabo para el cultivo y aislamiento de *Salmonella* (utilizado tanto para los *pooles* de heces muestreados en granjas como para las muestras de contenido intestinal obtenidas en matadero) seguía el método estándar ISO 6579:2002/Amd 1:2007. Este método se realiza mediante 4 etapas: un pre-enriquecimiento no selectivo, un enriquecimiento selectivo, un aislamiento selectivo y por último la confirmación bioquímica.

El pre-enriquecimiento consiste en la adición de 25 g de la muestra (en este caso van a ser las heces tanto de los *pooles* como las de contenido intestinal) en 225 ml de agua de peptona tamponada (BPW ISO, Oxoid Ltd., Basingstoke, Hants, UK). Posteriormente se realiza una buena homogeneización y se incuba durante 18 ± 2 horas a una temperatura de $37 \pm 2^\circ \text{C}$. Una vez pasado el tiempo de incubación se pasa a la fase de enriquecimiento selectivo donde se siembran 100 μL , del agua de peptona tamponada, divididos en tres gotas de aproximadamente 33 μL en una placa de agar Rappaport-Vassiliadis Semisólido Modificado (MSRV, Oxoid Ltd., Basingstoke, Hants, UK). Esta se incuba a $41,5 \pm 1^\circ \text{C}$ durante 24 48 horas. Una placa se considera positiva si se observa la presencia de un halo característico. Las placas consideradas negativas en MSRV se dejan incubando 24 horas más para valorarlas a las 48 horas. A partir de las placas positivas se toma una muestra (1 μL) de la parte más periférica del halo (zonas de migración) llevándolas a la siguiente etapa de aislamiento selectivo, donde se siembra por agotamiento en dos medios, Lisina Xilosa Desoxicolato (XLD medium, Oxoid Ltd., Basingstoke, Hants, UK) y agar verde brillante (BGA, Oxoid Ltd., Basingstoke, Hants, UK). Estas placas se incuban durante 24 ± 3 horas a una temperatura de $37 \pm 1^\circ \text{C}$. Para finalizar, tras el crecimiento de colonias sospechosas en cualquiera de los dos medios, se realizan las pruebas bioquímicas para la caracterización

fenotípica. Estas pruebas incluyen la siembra de una colonia sospechosa en caldo de soja triptona (Oxoid Ltd., Basingstoke, Hants, UK), caldo de lisina descarboxilasa (BD Difco™, Detroit, MI, USA), caldo de urea (BD Difco™, Detroit, MI, USA) y agar hierro triple azúcar (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Lo que permite confirmar la presencia de *Salmonella*.

4.3.2 Serología

Para analizar las muestras de suero para detectar la presencia de inmunoglobulinas G (IgG) frente a *Salmonella*, que son las que más comúnmente están presentes en el cerdo, se utilizó la prueba de ELISA indirecto *Herdchek Swine Salmonella ELISA test* (IDEXX Laboratories, Westbrook, ME, US). Un resultado positivo indica el contacto previo del cerdo con la bacteria pero no nos indica necesariamente que en ese momento el animal esté infectado (Mainar Jaime y Creus Gibert, 2018). Los resultados obtenidos se registraron como valores de % de densidad óptica (%DO) siguiendo las instrucciones del fabricante. Debido a la baja especificidad de la prueba de ELISA (Vico et al., 2010) se consideró un valor de corte de %DO \geq 40% para las estimaciones de seroprevalencia.

4.4 Análisis estadísticos

Para cada explotación, se estimó la seroprevalencia de *Salmonella* inicial en cada nave (GT y GC) un mes antes de la fecha de sacrificio y su correspondiente intervalo de confianza del 95% (IC95%) y se compararon mediante la prueba exacta de Fisher.

Para evaluar la eficacia del ácido fórmico esterificado se comparó la prevalencia de excreción de *Salmonella* entre el GC y GT mediante la prueba exacta de Fisher. Se consideró una diferencia significativa cuando el valor de P era menor o igual que 0,05 ($P \leq 0,05$). En caso de encontrar diferencias significativas entre los grupos, se utilizó la razón de prevalencias u *Odds Ratio* (OR) y su correspondiente IC95% para determinar la magnitud de la relación entre el tratamiento y la excreción de *Salmonella* en el matadero en cada explotación.

Para evaluar el efecto global del tratamiento se utilizó la OR ajustada de Mantel-Haenszel (Cobo et al., 2014).

5. Resultados

5.1 Seroprevalencia individual y prevalencia en corrales en las explotaciones

La Tabla 3 se muestran los resultados serológicos observados aproximadamente un mes antes del sacrificio para cada grupo y para las tres explotaciones. En todas las explotaciones se encontraron animales seropositivos, observándose seroprevalencias entre el 21% (explotación 1) y casi el 50% (explotación 3). La seroprevalencia individual media en estas tres explotaciones fue 36,1% (IC95%= 29,45-43,35).

No se observaron diferencias significativas en seroprevalencia entre los grupos de las explotaciones 1 y 2. En la explotación número 3, la de mayor seroprevalencia, sin embargo se encontró una diferencia significativa (33,3% vs. 63,3%; $P= 0,038$). A pesar de esta diferencia, se decidió seguir utilizando esta granja para el estudio, y para evitar el posible sesgo asociado con estas diferencias se optó por elegir como GT la nave con mayor seroprevalencia.

En cuanto a la presencia de *Salmonella* en los corrales, en las explotaciones 1 y 2 se detectó *Salmonella* en el 10% de los corrales, no encontrando diferencias de prevalencia entre naves. Si se observaron diferencias en la explotación 3, aunque no resultaron significativas (0% vs. 20%; $P= 0,474$), posiblemente por el limitado número de corrales comparado.

Tabla 3. Resultados de las pruebas serológicas y bacteriológicas en granja previas a la aplicación del tratamiento

		Serología			Bacteriología		
		Nº	Nº positivos (%)	<i>P</i>	Nº	Nº positivos (%)	<i>P</i>
Explotación 1	GC	30	5 (16,67%)	0,532	10	1 (10%)	1
	GT	30	8 (26,67%)		10	1 (10%)	
Explotación 2	GC	30	9 (30%)	0,288	10	1 (10%)	1
	GT	30	14 (46,67%)		10	1 (10%)	
Explotación 3	GC	30	10 (33,33%)	0,038	10	0 (0%)	0,474
	GT	30	19 (63,33%)		10	2 (20%)	

5.2 Excreción de *Salmonella* en el matadero

La Tabla 4 presenta los resultados de excreción de *Salmonella* en matadero de los GC y GT de las tres explotaciones. Considerando el conjunto de las tres explotaciones un total de 84 cerdos (35%; IC95%= 29,24-41,23) excretaron *Salmonella* en el matadero. Por explotaciones, se identificó *Salmonella* en el contenido intestinal del 46,25% (IC95%= 35,75-57,10) de los animales de la explotación 1; 6,25% (IC95%= 2,70-13,81) de los de la 2; y 52,5% (IC95%= 41,70-63,08) de los de la 3.

Cuando se comparan los resultados de acuerdo con los grupos, se encontraron diferencias significativas en las explotaciones 1 y 3, siendo siempre menor la excreción en los GT. En la explotación 2, la prevalencia de excreción también fue inferior en el GT, aunque la diferencia entre los grupos no llegó a ser significativa al nivel establecido, aunque cercana a la significación ($P= 0,055$). Esto ocurrió posiblemente por el escaso número de animales excretores identificados.

En las explotaciones donde las diferencias entre grupos fueron significativas, la OR, que mide la magnitud de la asociación entre el factor (tratamiento) y resultado (excreción) fue de alrededor de 5 (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados de las pruebas bacteriológicas tras el sacrificio en matadero

		Nº	Nº positivos (%)	<i>P</i>	OR (IC 95%)
Explotación 1	GC	40	26 (65%)	0,002	4,90 (1,90-12,70)
	GT	40	11 (27,5%)		
Explotación 2	GC	40	5 (12,5%)	0,055	-
	GT	40	0 (0%)		
Explotación 3	GC	40	29 (72,5%)	<0,001	5,48 (2,1-14,28)
	GT	40	13 (32,5%)		

En la Tabla 5 se muestran los resultados globales cuando se consideraron las tres explotaciones en conjunto. El porcentaje de excretores en los GT fue significativamente inferior al de los animales de los GC ($P < 0,001$). Se observó una reducción global de un 30% en la prevalencia de excreción en los animales tratados. La OR ajustada de Mantel Hanszel indicaba

que la “probabilidad” de excreción en los animales del GC era mucho mayor (alrededor de 6 veces superior) a la de los animales del GT.

Tabla 5. Datos globales de pruebas bacteriológicas tras el sacrificio en matadero

		Nº	Nº positivos (%)	P	OR (IC 95%)
Total	GC	120	60 (50%)	<0,001	5,84 (3,0-11,4)*
	GT	120	24 (20%)		

**Odds Ratio* ajustado de Mantel-Haenszel

6. Discusión

Como bien se ha ido exponiendo a lo largo de todo este trabajo, *Salmonella* constituye la segunda bacteria implicada en toxiinfecciones alimentarias en la UE (EFSA y ECDC, 2022). Esto hace que sea un patógeno al que se le debe de dedicar recursos y trabajo para tratar de reducir su incidencia. El ganado porcino es una de las principales vías de transmisión de *Salmonella* al ser humano constituyendo así un problema de salud pública. En España, diversos estudios han mostrado una alta prevalencia de infección en los cerdos de cebo (EFSA, 2008; Vico et al., 2011), y los últimos datos de la EFSA y el ECDC indican que un 11,6% de canales de porcino son positivas a esta bacteria, siendo así el país con un mayor porcentaje de canales positivas (EFSA y ECDC, 2022). Es por ello que está justificado el buscar nuevas estrategias de control que minimicen la excreción de *Salmonella* en matadero. Estas estrategias deben de ser efectivas y se debe buscar a su vez que sean rentables y cómodas de implantar en las explotaciones por los ganaderos.

En este estudio, los resultados del análisis de seroprevalencia inicial realizado aproximadamente un mes antes de la fecha de sacrificio mostraba valores relativamente altos en las tres explotaciones (rango 21-50%). La seroprevalencia individual en estas tres explotaciones tomadas en conjunto fue alta (36,1%), incluso superior a lo observado en un estudio previo en el que se analizaba la situación de 217 explotaciones situadas en la misma zona geográfica que estas tres y utilizando el mismo ELISA y punto de corte (19,7%; Vico y Mainar-Jaime, 2012). La presencia de esta alta seroprevalencia sugería que *Salmonella* estaba circulando por esas explotaciones antes del sacrificio de esos animales. Estos resultados serológicos también indicaban, si se toma el programa de control de salmonelosis alemán a modo de

ejemplo, que estas explotaciones hubieran estado situadas en las categorías de riesgo II (intermedio) y III (alto), por lo que sería recomendable iniciar algún tipo de control en las mismas.

En el estudio bacteriológico de los corrales se detectó *Salmonella* en todas las naves de las tres granjas, confirmando su presencia y corroborando de alguna manera los datos de serología. Hay que tener en cuenta que la bacteriología sobre heces es una técnica que se puede considerar confirmatoria por ser 100% específica, pero presenta una sensibilidad limitada (Hurd et al., 2003; Mainar Jaime, Atashparvar y Chirino Trejo, 2008), por lo que no necesariamente correlaciona bien con la serología. En cualquier caso, sí que se ha observado una relación significativa entre valores de %DO superiores a 40 y una mayor probabilidad de excreción de *Salmonella* en el matadero (Mainar Jaime et al., 2018). Por todo ello estas explotaciones parecían adecuadas para la realización de un estudio como este.

Los resultados de prevalencia en corrales volvieron a ser muy similares entre las naves de las explotaciones, observando cierta diferencia, no significativa, en la explotación número 3 (20% vs. 0%). Es muy posible que esta ausencia de diferencias significativas de prevalencia en los corrales fuera debida al limitado número de corrales analizados en cada grupo (10). Dados los resultados previos de serología en las naves de esta explotación y los de prevalencia de corrales, se decidió utilizar como GT la nave *a priori* con mayores niveles de infección. Así, cualquier resultado a favor del GT quedaría reforzado por la situación de partida.

Los resultados globales en matadero indicaban que el 35% (84 de 240) de los animales que llegaron al matadero procedentes de esas tres explotaciones excretaron *Salmonella*. Estos datos son algo superiores a los de un estudio reciente en Aragón donde se observaron prevalencias de excreción del 27,3% (Bernad-Roche, et al, 2022), y se correlacionarían con los niveles de infección por *Salmonella* en cerdos de matadero detectados en diversos estudios previos (EFSA, 2008; Vico et al., 2011). No es de extrañar así el tremendo problema al que se enfrentan los mataderos tratando de prevenir la contaminación de las canales cuando cada día alrededor de un tercio de los animales para sacrificar eliminan *Salmonella* al ambiente de este.

Al analizar los resultados por explotaciones, se observó que los animales de los GT siempre presentaron un menor porcentaje de excreción que los de los GC, sugiriendo que el ácido fórmico esterificado utilizado había tenido efectos positivos en el control de la excreción. En dos de las explotaciones, las reducciones alcanzadas rozaban el 40%, lo que podría suponer un impacto significativo en la reducción de los niveles de contaminación de las salas de espera del matadero y posiblemente del riesgo de contaminación durante el proceso de evisceración.

En la explotación 2, las diferencias no fueron tan obvias, con una reducción del 12,5%. Sin embargo, esto fue probablemente consecuencia de los bajos niveles de excreción general en los animales de dicha explotación. Es difícil entender por qué esta explotación con niveles serológicos similares a las otras dos presentó unos porcentajes de excreción en matadero significativamente menores, pero como se ha comentado anteriormente, serología y excreción no están necesariamente correlacionados. De hecho, esta situación se ha observado en otros estudios (Vico et al., 2010; Methner et al., 2011). Además, hay que tener en cuenta que los animales analizados bacteriológicamente en el matadero no coincidieron necesariamente con los analizados serológicamente en granja.

Parece evidente que el mayor beneficio se consigue en aquellas explotaciones donde la excreción es o se prevé alta, y los resultados obtenidos en la explotación 3 lo corroborarían. El GT de esta explotación partía inicialmente con unos valores de serología y prevalencia en corrales superiores a los del GC y sin embargo fue donde se observó la mayor reducción de la excreción en matadero en el GT (40% con respecto al GC; 32,5% vs. 72,5%).

Como era esperado tras observar los resultados individuales por explotación, el análisis global presentó así mismo unos resultados de eficacia de este producto bastante satisfactorios. Se obtuvo una reducción de la excreción del 30% que se traducía en un OR del 5,84 (IC 95% 3,0–11,4). Este resultado es más representativo del efecto real de este ácido que los resultados individuales al considerar diferentes tipos de explotaciones con diferentes niveles de infección iniciales.

Teniendo en cuenta los resultados de este estudio y de los obtenidos por Bernad-Roche et al (2022), el efecto beneficioso de este tratamiento se podría ver potenciado si se utilizase el mismo ácido en los tiempos de espera de matadero. Así, esta podría ser una nueva estrategia que implementar, la combinación del ácido en los días anteriores a matadero y en los tiempos de espera del matadero, para el control de la contaminación por *Salmonella* del ambiente del matadero, lo que reduciría las probabilidades de contaminación de las canales y, seguramente, el riesgo de infección posterior de las personas. El objetivo siguiente sería intentar conocer con antelación en qué explotaciones es necesario realizar el tratamiento, con el fin de minimizar el impacto económico que supondría.

7. Conclusiones

Salmonella es la segunda zoonosis de transmisión alimentaria con más incidencia en la UE por lo que se hace necesario buscar nuevas estrategias de control eficaces para su aplicación en los países miembros, particularmente tras la constatación del fracaso de los planes nacionales de control implementados en algunos países de la UE.

Los resultados de este estudio indican que la administración del ácido fórmico esterificado (MOLI-M C1, Molimen SL, Barcelona, España) en agua durante los 5 días previos al sacrificio tiene una notable eficacia para la reducción de *Salmonella* en matadero. Esta estrategia podría ser complementaria al resto de medidas de control explicadas en este trabajo siendo una opción viable gracias a ser una opción fácil de aplicar y eficaz.

Si bien este método no está diseñado para reducir la prevalencia de *Salmonella* en las explotaciones, si cumple los objetivos generales de contribuir a una reducción de la incidencia de salmonelosis en la población.

Salmonella is the second most common food-borne zoonosis in the EU, which makes compulsory the search for new effective control strategies, particularly after the failure of national control plans implemented in some EU countries.

The results of this study indicate that the administration of esterified formic acid (MOLI-M C1, Molimen SL, Barcelona, Spain) in water during the 5 days prior to slaughter has a notable efficacy in reducing *Salmonella* shedding at slaughter. This strategy could be complementary to the rest of the control measures explained in this work, being a reliable option as it would be effective and easy to apply.

Although this method is not designed to reduce the prevalence of *Salmonella* at the farm, it does meet the general objectives of contributing to a reduction in the incidence of salmonellosis in the population.

8. Valoración personal

La salmonelosis humana es una enfermedad de transmisión alimentaria que causa muchos problemas en nuestra sociedad, en cuanto a brotes o infecciones localizadas se refiere. Es por esto que el papel del veterinario es crucial para la control de esta enfermedad ya que somos los que estamos en continuo trabajo con los animales. Además, creo que el riesgo percibido por la sociedad de esta enfermedad es inferior que el riesgo real que supone, tanto para los consumidores como para los productores. Para mejorar esta situación sería interesante realizar campañas de información sobre todos los aspectos comentados en este trabajo. Un aspecto clave para llegar a lograr una estrategia efectiva frente a *Salmonella* es que además de su efectividad sea una estrategia económica y aplicable por los ganaderos, integradoras y mataderos.

Trabajar sobre un tema que relaciona la producción animal con la salud pública me ha aportado conocimientos sobre muchos de los aspectos sobre la producción involucrados en enfermedades de transmisión alimentaria y zoonosis además de darme una visión global de estos problemas. También he adquirido competencias sobre diferentes métodos de toma de muestras y su posterior procesado usando los análisis laboratoriales correspondientes a cada prueba. Además, me ha aportado aprender más sobre los papeles que puede tener un veterinario en la investigación y una aproximación de cómo se realiza la elaboración de un artículo científico.

9. Bibliografía

Adams, C.A. (2000). *The role of nutricinas in health and total nutrition*. Disponible en: <https://www.gwfnutrition.com/pages/knowledge-base-role-of-nutricines>. [Consultado: 07-06-2023]

Anónimo, (2021). QS Qualität und Sicherheit GmbH. 20 Jahre QS: Salmonellenrisiko Um Über 70% Gesunken. Disponible en: <https://www.q-s.de/presse-meldungen/20-jahre-qs-salmonellenrisiko-um-ueber-70-prozent.html> [Consultado: 22-05-2023].

Andrés Barranco, S., Vico, J.P., Grilló, M.J. y Mainar Jaime, R.C. (2014). "Reduction of subclinical *Salmonella* infection in fattening pigs after dietary supplementation with a β -galactomannan oligosaccharide." *Journal of Applied Microbiology*, 118(2), pp. 284-294. DOI: [10.1111/jam.12713](https://doi.org/10.1111/jam.12713)

Argüello, H., Alvarez Ordoñez, A., Carvajal, A., Rubio, P., Prieto, M. (2013). "Role of slaughtering in *Salmonella* spreading and control in pork production". *Journal of food protection*, 76(5), pp. 899-911. DOI: [10.4315/0362-028X.JFP-12-404](https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-404).

Astorga, R. J., Argüello, H., y Gómez, J. (2020). "EL PARADIGMA DE SALMONELLA : Vigilancia y control en ganado porcino y avicultura". *One Health In*, 30 de abril. Disponible en: <https://onehealthin.com/el-paradigma-de-salmonella-vigilancia-y-control-en-ganado-porcino-y-avicultura/> [Consultado: 06-04-2023]

Beloeil, P.A., Chauvin, C., Proux, K., Madec, F., Fravallo, P. y Alioum, A. (2004) "Impact of the *Salmonella* status of market-age pigs and the pre-slaughter process on *Salmonella* caecal contamination at slaughter". *Vet Res*, 35(5), pp. 513-530. DOI: [10.1051/vetres:2004028](https://doi.org/10.1051/vetres:2004028).

Bernad Roche, M., Casanova Higes, A., Marín Alcalá, C.M. y Mainar Jaime, R.C. (2022). "Salmonella Shedding in Slaughter Pigs and the Use of Esterified Formic Acid in the Drinking Water as a Potential Abattoir-Based Mitigation Measure." *Animals*, 12(13). DOI: [10.3390/ani12131620](https://doi.org/10.3390/ani12131620)

Brown, E. W., Bell, R., Zhang, G., Timme, R., Zheng, J., Hammack, T. S. y Allard, M. W. (2021). "Salmonella Genomics in Public Health and Food Safety." *EcoSal Plus*, 9(2). DOI: [10.1128/ecosalplus.ESP-0008-2020](https://doi.org/10.1128/ecosalplus.ESP-0008-2020)

Casanova Higes, A. (2019). *Avances en la epidemiología de la salmonelosis porcina y estrategias de control asociadas*. Tesis de doctorado. Universidad de zaragoza.

Casanova Higes, A., Andrés Barranco, S. y Mainar Jaime, R. C., (2017). "Effect of the addition of protected sodium butyrate to the feed on *Salmonella* spp. infection dynamics in fattening pigs. *Animal Feed Science and Technology*". *Animal Feed Science and Technology*, 231, pp. 12–18. DOI: [10.1016/j.anifeedsci.2017.06.008](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.06.008).

Casanova Higes, A., Andrés Barranco, S. y Mainar Jaime, R.C. (2019). "Use of a new form of protected sodium butyrate to control *Salmonella* infection in fattening pigs." *Spanish Journal of Agricultural Research*, 16(4), pp. 1-5. DOI: [10.5424/sjar/2018164-13888](https://doi.org/10.5424/sjar/2018164-13888)

Cobo, E., González, J.A., Cortés, J. y Bielsa, N. (2014). "Capítulo 17: Confusión. Causas relacionadas implica efectos confundidos. En Bioestadística para no estadísticos. Tome decisiones con criterio". *Universitat Politècnica de Catalunya*. Disponible en: [https://www-eio.upc.es/teaching/best/Cap17.pdf](https://www.eio.upc.es/teaching/best/Cap17.pdf). [Consultado: 07-06-2023]

Comunidad Europea. Reglamento (CE) n° 1441/2007 de la Comisión, de 5 de diciembre de 2007 , que modifica el Reglamento (CE) n° 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Union Europea*, L322/12, de 7 de diciembre de 2007. Disponible en: <http://data.europa.eu/eli/reg/2007/1441/oj>. [Consultado: 07-06-2023]

Comunidad Europea. Reglamento (CE) n° 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005 , relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. *Diario oficial de la Unión Europea*, L338/1, de 22 de diciembre de 2005. Disponible en: <http://data.europa.eu/eli/reg/2005/2073/oj>. [Consultado: 07-06-2023]

Comunidad Europea. Reglamento (CE) n° 2160/2003 del parlamento europeo y del consejo, de 17 de noviembre de 2003, sobre el control de la salmonela y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L325/1, de 12 de diciembre de 2003. Disponible en: <http://data.europa.eu/eli/reg/2003/2160/2021-04-21> [Consultado 07-04-2023]

Creus Gibert, E. (2014). "Programas de vigilancia y control de la salmonelosis porcina en la UE: bases generales". *3tres3.com*, 12 de mayo. Disponible en: <https://www.3tres3.com/articulos/programas-de-vigilancia-y-control-de-la-salmonelosis-porcina-en-la-ue-33693/> [Consultado: 07-04-2023]

Creus Gibert, E., Andrés Barranco, S. y Mainar Jaime, R. C. (2014a). "Actualización en el control de la salmonelosis porcina a través de la alimentación (I)". *Avances En Tecnología Porcina*, XI(10), pp. 36-47. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10532/2758> [Consultado: 11-04-2023]

Creus Gibert, E., Andrés Barranco, S. y Mainar Jaime, R. C. (2014b). "Actualización en el control de la salmonelosis porcina a través de la alimentación (II)". *Avances En Tecnología Porcina*, XI(11), pp. 34-45. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10532/2759> [Consultado 11-04-2023]

De Lange, C.F.M., Pluske, J., Gong, J. y Nyachoti, C.M. (2010). "Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs". *Livestock Science*, 134, pp. 124-134. DOI: [10.1016/j.livsci.2010.06.117](https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.117)

European Food Safety Authority. (2006). "Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) on Risk assessment and mitigation options of *Salmonella* in pig production". EFSA. *EFSA JOURNAL*, 4(4), pp. 1-131. DOI: [10.2903/j.efsa.2006.341](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2006.341)

European Food Safety Authority. (2008). "Report of the task force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs". EFSA. *EFSA JOURNAL*, 135, pp. 1–111. DOI: [10.2903/j.efsa.2008.135r](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.135r)

European Food Safety Authority y European Centre for Disease Prevention and Control. (2022). "The European Union One Health 2021 Zoonoses Report". EFSA y ECDC. *EFSA JOURNAL*, 20(12), pp. 1-273. DOI: [10.2903/j.efsa.2022.7666](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7666)

Gaggia, F., Mattarelli, P., y Biavati, B. (2010). "Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production". *International journal of food microbiology*, 141, pp. 15-28. DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031).

Grimont, P. y Weill F.X. (2007). *Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars*. Disponible en: https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf. [Consultado: 09-04-2023]

Hurd, H.S., McKean, J.D., Griffith, R.D., y Rostagno, M.H. (2004). "Estimation of the *Salmonella enterica* prevalence in finishing Swine". *Epidemiology and Infection*, 132(1), pp. 127–135. DOI: [10.1017/s0950268803001249](https://doi.org/10.1017/s0950268803001249)

Jensen, B.B., Højberg, G.O., Mikkelsen, L.L., Hedemann, S., y Canibe, N. (2003). "Enhancing intestinal function to treat and prevent intestinal Disease", *9th International Symposium on Digestive Physiology in Pigs*. Alberta, Canada, enero 2003. pp. 103-119

Kollanoor Johny, A., Mattson, T., Baskaran, S.A., Amalaradjou, M.A., Hoagland, T.A., Darre, M.J., Khan, M.I., Schreiber, D.T., Donoghue, A.M., Donoghue, D.J., y Venkitanarayanan, K. (2012). "Caprylic acid reduces *Salmonella* Enteritidis populations in various segments of digestive tract

and internal organs of 3- and 6-week-old broiler chickens, therapeutically". *Poultry science*, 91(7), pp. 1686–1694. DOI: [10.3382/ps.2011-01716](https://doi.org/10.3382/ps.2011-01716)

Luise, D., Correa, F., Bosi, P. y Trevisi, P. (2020). "A Review of the Effect of Formic Acid and Its Salts on the Gastrointestinal Microbiota and Performance of Pigs." *Animals*, 10(5): 887. DOI: [10.3390/ani10050887](https://doi.org/10.3390/ani10050887)

Mainar Jaime, R.C., Atashparvar, N. y Chirino Trejo, M. (2008). "Estimation of the diagnostic accuracy of the *invA*-gene-based PCR technique and a bacteriological culture for the detection of *Salmonella* spp. in caecal content from slaughtered pigs using Bayesian análisis". *Zoonoses and public health*, 55(2), pp. 112–118. DOI: [10.1111/j.1863-2378.2007.01096.x](https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.01096.x)

Mainar Jaime, R.C., Casanova Higes, A., Andrés Barranco, S. y Vico, J.P. (2018). "Looking for new approaches for the use of serology in the context of control programmes against pig salmonellosis". *Zoonoses and public health*, 65(1), pp. 222–228. DOI: [10.1111/zph.12432](https://doi.org/10.1111/zph.12432)

Mainar Jaime, R.C. y Creus Gibert, E. (2018). *Guías prácticas en producción porcina. Control de la salmonelosis porcina*. Zaragoza: Servet.

Michiels, J., Missotten, J., Rasschaert, G., Dierick, N., Heyndrickx, M. y De Smet, S. (2012). "Effect of Organic Acids on *Salmonella* Colonization and Shedding in Weaned Piglets in a Seeder Model." *Journal of Food Protection*, 75(11), pp. 1974-1983. DOI: [10.4315/0362-028X.JFP-12-210](https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-210)

Methner, U., Rammner, N., Fehlhaber, K., y Rösler, U. (2011). "*Salmonella* status of pigs at slaughter--bacteriological and serological análisis". *International journal of food microbiology*, 151(1), pp. 15–20. DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.028](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.028)

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (2022). *Informe de zoonosis 2020 "una sola salud"*. MAPA. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/informe_zoonosis_2020_tcm30-628998.pdf [Consultado: 07-04-2023]

Organización Mundial de la Salud. (2023). "*Fiebre tifoidea*". OMS. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/typhoid#:~:text=La%20fiebre%20tifoidea%20es%20una,y%20pasa%20al%20torrente%20circulatorio>. [Consultado: 01-05-2023]

Organización Mundial de la Salud. (2018). "*Salmonella (no tifoidea)*". OMS. Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)). [Consultado: 07-06-2023]

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y alimentación y Organización Mundial de la Salud. (2002). "Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food" London, Ontario, Canada: FAO y OMS. Disponible en: <http://fanus.com.ar/posgrado/10-09-25/fao%20probiotics.pdf>. [Consultado: 07-06-2023]

Plonait, H. y Bickhardt, K. (2001). *Manual de Las Enfermedades del Cerdo*. (2ª ed.) Zaragoza: Acribia, S.A.

Puyalto, M., Mainar Jaime, R.C., Andrés Barranco, S., Creus, E. y Mallo, J.J. (2015). "Protected sodium butyrate to fight *Salmonella*." *ALL ABOUT FEED*, 23(5), pp. 6-7. Disponible en: <https://www.allaboutfeed.net/animal-feed/feed-additives/protected-sodium-butyrate-to-fight-salmonella/> [Consultado: 15-04-2023]

Rasschaert, G., Michiels, J., Tagliabue, M., Missotten, J., De Smet, S. y Heyndrickx, M. (2016). "Effect of Organic Acids on *Salmonella* Shedding and Colonization in Pigs on a Farm with High *Salmonella* Prevalence." *Journal of Food Protection*, 79(1), pp. 51-58. DOI: [10.4315/0362-028X.JFP-15-183](https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-183)

Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. (2022). *Informe epidemiológico sobre la situación de la Salmonelosis en España. Años 2019 y 2020*. RENAVE. Disponible en: https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/archivos%20A-Z/Salmonelosis/Informe%202019_2020_Salmonelosis_final.pdf [Consultado: 10-04-2023]

Ryan, M.P., O'Dwyer, J., y Adley, C.C. (2017). "Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen *Salmonella*." *BioMed research international*, 2017, pp. 1-6. DOI: [10.1155/2017/3782182](https://doi.org/10.1155/2017/3782182)

Swart, A.N., Evers, E.G., Simons, R.L., y Swanenburg, M., (2016). "Modeling of *Salmonella* Contamination in the Pig Slaughterhouse". *Risk analysis : an official publication of the Society for Risk Analysis*, 36(3), pp. 498-515. DOI: [10.1111/risa.12514](https://doi.org/10.1111/risa.12514).

Tugnoli, B., Giovagnoni, G., Piva, A., y Grilli, E. (2020). "From Acidifiers to Intestinal Health Enhancers: How Organic Acids Can Improve Growth Efficiency of Pigs. *Animals (Basel)* 10(1). DOI: [10.3390/ani10010134](https://doi.org/10.3390/ani10010134).

Unión Europea. Reglamento (UE) Nº 68/2013 de la Comisión, de 16 de enero de 2013 , relativo al *Catálogo de materias primas para piensos Texto pertinente a efectos del EEE, Diario*

oficial de la Unión Europea L29/1, de 30 de enero de 2013. Disponible en: <http://data.europa.eu/eli/reg/2013/68/2022-07-24> [Consultado: 27-04-2023]

Vico, J.P., Engel, B., Buist, W.G. y Mainar Jaime R.C. (2010). "Evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibodies against *Salmonella* spp. in meat juice from finishing pigs in Spain." *Zoonoses Public Health* 57(s1), pp. 107-114. DOI: [10.1111/j.1863-2378.2010.01364.x](https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2010.01364.x)

Vico, J.P., Rol, I., Garrido, V., San Román, B., Grilló, M.J., y Mainar Jaime, R.C. (2011). "Salmonellosis in finishing pigs in Spain: prevalence, antimicrobial agent susceptibilities, and risk factor analysis". *Journal of food protection*, 74(7), pp. 1070–1078. DOI: [10.4315/0362-028X.JFP-10-515](https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-515)

Vico, J.P., Engel, B., Buist, W.G. y Mainar Jaime, R.C. (2010). "Evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibodies against *Salmonella* spp. in meat juice from finishing pigs in Spain". *Zoonoses and public health*, 57, pp. 107–114. DOI: [10.1111/j.1863-2378.2010.01364.x](https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2010.01364.x)

Vico, J.P., y Mainar Jaime, R.C. (2012). "Serological survey of *Salmonella* spp. infection in finishing pigs from northeastern Spain and associated risk factors". *Spanish Journal of Agricultural Research*, 10(2), pp. 372-382. DOI: [10.5424/sjar/2012102-446-11](https://doi.org/10.5424/sjar/2012102-446-11)

Wierup, M. (2006). The Swedish Salmonella control in primary production – an overview of its background, strategy and development: Salmonella Workshop – control in poultry from feed to farm. National Veterinary Institute, Uppsala, Sweden, pp. 11-14.

Zimmerman, J. J., Karriker, L. A., Ramirez, A., Schwartz, K. J., Stevenson, G.W., y Zhang, J. (2019). *Diseases of Swine*. (11ª ed.) USA: Wiley Blackwell.