

PAPEL DE LA FAUNA SILVESTRE EN LA EPIDEMIOLOGÍA DE LA SALMONELOSIS PORCINA EN CEBADEROS

Andrés, S.¹, Vico, JP.¹, Samper, S.², Garrido, V.³ y Mainar-Jaime, RC.^{*,4}

¹Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Avda. Montañana, 930. 50059 Zaragoza; ²IIS Aragón, Laboratorio Investigación Molecular, Hospital Universitario Miguel Servet. 50009 Zaragoza; ³Instituto de Agrobiotecnología (CSIC-UPNA-Gobierno de Navarra). 31006. Pamplona ⁴Dpto. de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. 50013 Zaragoza.

*E-mail: rcmainar@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis ocupa la segunda posición en el listado de zoonosis por transmisión alimentaria de la Unión Europea (EFSA, 2012) y la carne de cerdo se considera la segunda fuente más importante de esta infección humana. El éxito de los programas de control de la salmonelosis porcina en las explotaciones se basa en disponer de un conocimiento adecuado de su epidemiología. Aunque la principal fuente de salmonelosis en el porcino son los propios cerdos infectados asintóticamente, las aves silvestres y los pequeños mamíferos, especialmente aquellos que comúnmente frecuentan las explotaciones ganaderas, podrían actuar como reservorios naturales de *Salmonella* spp. y jugar así un papel fundamental en la epidemiología de esta infección. El objetivo de este trabajo es estudiar, en un área de alta prevalencia de salmonelosis porcina (Aragón), los posibles vínculos entre la infección en animales silvestres y en el ganado porcino de cebo, mediante el estudio de las relaciones fenotípicas y genotípicas entre aislados de *Salmonella* spp. obtenidos de esas especies animales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las explotaciones porcinas se seleccionaron en función de las posibilidades existentes para la captura de pájaros. En cada explotación se disponían redes de captura en zonas transitadas por las aves y se colocaban cepos para atrapar roedores. También se recogían muestras de heces frescas de cerdos de los cebaderos (en *pooles* de 4 muestras individuales) y muestras ambientales (principalmente heces de aves y roedores) de lugares a los cuales los cerdos no tenían acceso (ventanas, muros, etc.). Las aves capturadas se colocaban, privadas de luz, en jaulas estériles hasta que defecaban, tras lo cual se identificaban, anillaban y se soltaban. Las heces se recogían mediante hisopos para su análisis laboratorial. En función del número y especies capturadas las muestras se podían analizar como *pooles* o individualmente. Se muestrearon también aves de entornos naturales alejados de explotaciones porcinas con el fin de comparar su prevalencia de salmonelosis con la de las aves capturadas en los alrededores de explotaciones porcinas.

La detección de *Salmonella* spp. se realizó siguiendo la norma ISO 6579:2002. Las cepas de *Salmonella* aisladas se enviaron al Centro Nacional de Referencia de Salmonelosis Animal en Algete, Madrid, para su serotipado. La técnica de Kirby-Bauer se utilizó de acuerdo con las recomendaciones de los estándares internacionales (CLSI/NCCLS, 2005) para determinar los patrones de sensibilidad frente a un panel de 10 antimicrobianos recomendados por la normativa europea (DOUE, 2007) (i.e. ácido nalidíxico, ciprofloxacino, cefotaxima, ampicilina, cloranfenicol, estreptomycin, gentamicina, sulfisoxazol, trimetoprima, y tetraciclina). El genotipado de las muestras se realizó mediante la técnica de electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) siguiendo el protocolo estandarizado de PulseNet, con modificaciones de Ribot *et al.*, 2006. Como marcador de peso molecular se empleó *Salmonella* Braenderup H9812 (Hunter *et al.*, 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se muestrearon un total de 44 explotaciones porcinas situadas en las provincias de Huesca y Zaragoza. En 30 (68%) de ellas se aisló *Salmonella* en alguna de las muestras tomadas. Los resultados globales del muestreo se presentan en la Tabla 1. Algo más de un 50% de las explotaciones muestreadas presentaron muestras de porcino positivas a *Salmonella* spp., un porcentaje similar al de explotaciones con muestras ambientales positivas a este

agente patógeno. Es destacable que más de un 25% de las muestras ambientales recogidas, formadas principalmente por heces de aves y roedores, fueron positivas a *Salmonella* spp., un porcentaje muy superior al observado cuando las muestras se obtuvieron directamente de la captura de estos animales.

La prevalencia fue significativamente mayor (Odds Ratio=16,5; IC95%=5,2-52,6; P<0,01) en las muestras de aves capturadas en las inmediaciones de cebaderos, siendo *S. Typhimurium* el serotipo más frecuente en aves. En el 44% de las explotaciones donde se aisló *Salmonella* tanto de porcino como de aves silvestres se observó una relación filogenética entre cepas procedentes de estas especies animales (Figura 1). Este porcentaje fue similar (43%) en el caso de las muestras ambientales, pero muy superior (80%) en el caso de los roedores.

La gran mayoría (94,4%) de las cepas aisladas a partir de heces de porcino presentaron algún tipo de resistencia antimicrobiana (RA) (Tabla 2). Por el contrario, las cepas procedentes de aves silvestres fueron mayoritariamente sensibles a los antibióticos (74%), y cuando presentaron RA, el patrón generalmente coincidía con el observado en las cepas de *Salmonella* aisladas a partir de muestras de cerdos de la explotación correspondiente. Las cepas obtenidas a partir de roedores presentaron niveles de RA también elevados (78%) y, además, en el 66% de las explotaciones el patrón de RA coincidía con el observado en muestras de cerdos de esas mismas explotaciones. Esta observación junto con los resultados de homología de las cepas de roedores y cerdos sugiere un contacto mucho más estrecho de los cerdos con estos que con las aves.

Las muestras ambientales mostraron unos mayores niveles de RA (75,8%) (Tabla 2), lo que podría deberse a que este tipo de muestras (mayoritariamente heces de aves y roedores) hubieran sufrido una contaminación secundaria con cepas de *Salmonella* circulantes por la explotación (en el ambiente, aire) en vez de estar originalmente contaminadas. De las 23 granjas positivas a *Salmonella* en heces de porcino, 21 (91,3%) presentaron multiresistencia y sólo 2 resultaron sensibles a todos los antibióticos analizados. En estas dos explotaciones, los aislados de *Salmonella* obtenidos a partir de aves, roedores y ambiente también resultaron sensibles a todos los antibióticos testados.

En conclusión, los resultados de este estudio sugieren que 1) las granjas porcinas actuarían como facilitadoras de la transmisión de la salmonelosis entre las aves silvestres independientemente del origen primario de la infección (aves o porcino); 2) el grado de congregación de aves podría tener mucho que ver en la transmisión de la infección ya que la relación genética entre aislados de diferentes especies de aves se observó en explotaciones donde las aves eran muy abundantes; 3) las cepas aisladas de roedores mostraron una gran relación con las aisladas de cerdos, indicando la importancia de estos animales como factores de riesgo y/o mantenimiento de la infección en las explotaciones; 4) todos estos resultados aportan información epidemiológica muy práctica a la hora de plantear medidas de control de esta infección en las explotaciones, que deberían estar basadas en estrictas medidas de higiene y bioseguridad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EFSA. 2012. EFSA J. 10:2597
- CLSI/NCCLS. 2005. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 7th. Ed. NCCLS, Wayne, Pa.
- DOUE. 2007. Diario Oficial de la Unión Europea C:2421
- Ribot, E.M., Fair, M.A., Gautom, R., Cameron, D.N., Hunter, S.B., Swaminathan, B., Barrett, T.J. 2006. Foodborne Pathog Dis 3:59-67
- Hunter, S.B., Vauterin, P., Lambert-Fair, M.A., Van Duyne, M.S., Kubota, K., Graves, L., Wrigley, D., Barrett, T., Ribot, E. 2005. J Clin Microbiol 43:1045-1050.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado en su totalidad por el INIA (FAU2008-16).

Tabla 1. Resultados generales de prevalencia a *Salmonella* spp. en los diferentes tipos de muestras recogidas

Muestra	Nº expl.	Nº explot. + (%)	Nº muestras / nº individuos	Nº muestras + (%) / nº mínimo-máximo de indiv. + (%)
Heces porcino	41	23 (56)	397 / 1588	54 (13,6) / 54-216 (3,5-13,6)
Aves	42	9 (21,43)	682 / 1453	27 (3,96) / 27-124 (1,86-8,53)
Roedores	13	5 (38,46)	88 / 88	9 (10,23)
Ambientales	41	21 (51,22)	135 / na	32 (23,7)
Heces aves	32	15 (46,88)	62 / na	20 (32,26)
Heces roedores	26	7 (26,92)	41 / na	8 (19,51)
Silos	21	3 (14,29)	32 / na	4 (12,5)

Tabla 2. Prevalencia de resistencia a los antimicrobianos en los aislados de *Salmonella* spp. procedentes de diferentes orígenes

	Muestras +	Resistentes (%)	Multirresistencia* (%)
Heces porcino	54	51 (94,4)	50 (92,6)
Aves	27	7 (26)	6 (22,2)
Roedores	9	7 (78)	6 (66,7)
Ambientales			
Heces aves	20	18 (90)	11 (55)
Heces roedores	8	7 (87,5)	7 (87,5)
Silos	4	4 (100)	4 (100)

*A más de dos antibióticos

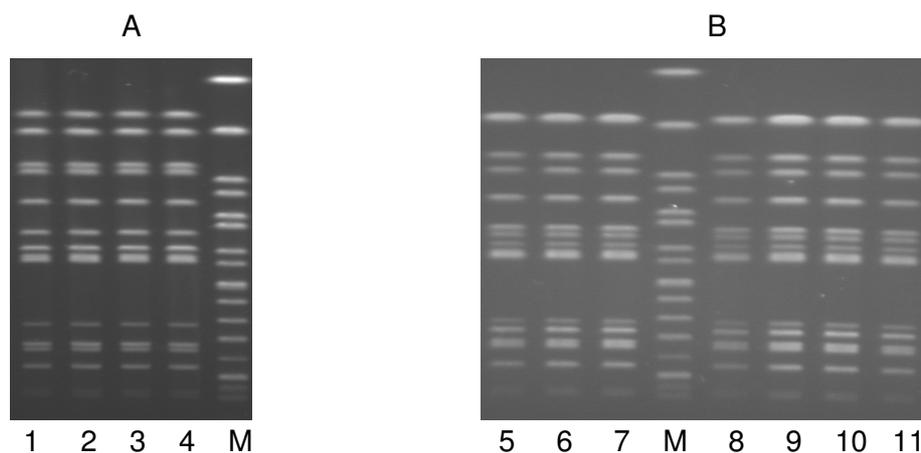


Figura 1. Patrones de PFGE generados por el enzima *Xba*I en cepas de *S. Typhimurium* procedentes de dos explotaciones (A y B) a partir de muestras de diferentes orígenes. Líneas: M (marcador); S. Braenderup H9812; 1: ave; 2 y 3: roedor; 4: heces de cerdo; 5 y 6: heces de cerdo; 7, 8, 9 y 10: ave; 11: ambiente.

ROLE OF WILDLIFE IN THE EPIDEMIOLOGY OF SALMONELLOSIS IN FINISHING PIGS

ABSTRACT: The aim of this study was to investigate the potential relationship between *Salmonella* infection in wildlife and pigs. Feces from pigs, small rodents, wild birds and other environmental samples from 44 finishing farms were cultured for *Salmonella* isolation. In 30 (68%) farms *Salmonella* was isolated. Out of 122 *Salmonella* isolates found, 80 (63%) were Typhimurium and its monophasic variant. In 13 (43%) farms the same *Salmonella* serotype was isolated from samples from different origins and similar AR and PFGE patterns were found, which would support the existence of a transmission cycle of *Salmonella* infection between wildlife and pigs in this area.

Keywords: Salmonella, finishing pigs, wildlife.