



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los alimentos

Reducción de la excreción de *Salmonella* spp en cerdos antes del sacrificio en matadero

Salmonella shedding reduction prior to pig slaughter

Autor/es

Mario Ruiz Palacín

Director/es

Raúl C. Mainar Jaime

Alejandro Casanova Higes

Facultad de Veterinaria

2018

Índice

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
3.1 El género Salmonella	3
3.2 La salmonelosis como problema para la Salud Pública	4
3.3 Importancia del cerdo como fuente de infección	6
3.4 Infecciones por Salmonella a lo largo de la cadena productiva	8
3.4.1 Influencia del estado en los cerdos al final del ciclo productivo	8
3.4.2 Transporte	9
3.4.3 Estabulación en el matadero como factor de riesgo en la infección	9
3.4.4 Factores que afectan a la contaminación de la canal	10
3.4.5 Utilización de ácidos orgánicos para el control de la salmonelosis	13
4. OBJETIVOS	15
5. METODOLOGÍA	15
5.1 Diseño del estudio	16
5.2 Ácido orgánico utilizado	17
5.3 Análisis laboratoriales	18
5.4 Análisis estadísticos	20
6. RESULTADOS	21
7. DISCUSIÓN	23
8. CONCLUSIÓN	25
9. CONCLUSION	26
10. VALORACION PERSONAL	26
11. BIBLIOGRAFÍA	27

1. RESUMEN

La salmonelosis no tifoidea es una de las enfermedades de transmisión alimentaria de mayor incidencia en los países desarrollados, al ser una de las zoonosis más comunes de transmisión al hombre mediante los alimentos. Ha sido una zoonosis tradicionalmente asociada al consumo de huevos y carne de pollo, aunque, en los últimos años, se ha observado cómo han ido aumentando los casos de salmonelosis humana relacionados con el cerdo. Por ello, según los últimos estudios, el consumo de carne de cerdo y derivados podría ser un problema para la Salud Pública si no se controla adecuadamente la infección en los animales a lo largo de la cadena productiva.

El objetivo en este estudio, fue evaluar la reducción de la excreción de *Salmonella* en los cerdos de matadero, a través de la utilización de un ácido orgánico (ácido fórmico esterificado, MOLI MC1, Molimen SL, Barcelona, España), añadido al agua de bebida de los cerdos en los corrales de espera del matadero. Para ello, se utilizaron cerdos procedentes de una misma explotación y al llegar al matadero se separaron en dos corrales de 40 animales cada uno. En uno de los corrales (grupo Tratamiento) se adicionó el ácido orgánico mencionado anteriormente al agua, mientras que, en el otro corral, se utilizó agua sin tratar (grupo Control). Tras un tiempo medio de espera de 15 horas, los cerdos fueron llevados al sacrificio y, durante la evisceración, se recogieron muestras fecales de los 80 animales directamente del intestino grueso. Se analizó la presencia de *Salmonella* en las heces mediante bacteriología (ISO 6579:2002/Amd 1:2007) y se evaluó si existen diferencias significativas en la proporción de animales excretores entre ambos grupos. Se realizaron un total de cinco réplicas de este estudio hasta un total de 400 animales muestreados aproximadamente.

Se observó un resultado significativo en la reducción de la excreción de *Salmonella* de los cerdos del grupo tratado (57,5% vs. 40,1%, $p < 0,01$). Por lo tanto, podemos concluir que el uso de este ácido orgánico puede ser útil en la reducción de la excreción de *Salmonella* en heces en cerdos de matadero.

2. ABSTRACT

Non-typhoid salmonellosis is one of the foodborne diseases of greatest incidence in developed countries, as it is one of the most common zoonoses transmitted to humans through food. It has been a zoonosis traditionally associated with the consumption of eggs and chicken meat, although, in recent years, it has been observed how there have been an increasing number of cases of human salmonellosis related to swine. Therefore, according to recent studies, the consumption of pork and products thereof could be a problem for Public Health if the infection is not adequately controlled in animals along the production chain.

The objective in this study was to evaluate the reduction of *Salmonella* excretion in slaughterhouse swine, through the use of an organic acid (esterified humor acid, MOLI MC1, Molimen SL, Barcelona, Spain), added to the drinking water of the swine in the waiting pens of the slaughterhouse. For this, swine from the same farm were used and when they arrived at the slaughterhouse they separated into two pens of 40 animals each.

In one of the pens (Treatment group) the above-mentioned organic acid was added to the water, while in the other pen, untreated water was used (Control group). After an average waiting time of 15 hours, the pigs were slaughtered and, after evisceration, fecal samples were collected directly from the large intestine of the 80 animals. The presence of *Salmonella* in feces was analyzed by bacteriology (ISO 6579: 2002 / Amd 1: 2007) and it was estimated whether there were significant differences in the proportion of shedding animals between both groups. A total of five replicates of this study were carried out and 400 animals sampled.

A significant result was observed in the reduction of *Salmonella* shedding in pigs from the treated group (57.5% vs. 40.1%, $p < 0.01$). Therefore, we can conclude that the use of this organic acid can be useful in reducing the shedding of *Salmonella* in faeces from slaughter pigs.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 El género *Salmonella*

Salmonella es un género bacteriano perteneciente a la familia de *Enterobacteriaceae*. *Salmonella* es una bacteria Gram negativa, de forma bacilar, generalmente contiene flagelos peritricos que les permiten tener la característica de ser móviles (a excepción de *S. Gallinarum* y *S. Pullorum*), son anaerobias facultativas no encapsulada ni esporuladas y su tamaño oscila de 0,3 a 1 μm x 1,0 a 6,0 μm .

La mayoría de este género presenta un conjunto de características bioquímicas comunes, producen ácido y gas a partir del monosacárido glucosa. Sin embargo, no fermentan disacáridos como lactosa o sacarosa, son catalasas positivas y oxidasas negativas, reducen los nitratos a nitritos, utilizan el citrato como fuente única de carbono, producen sulfuro de hidrogeno y descarboxila la lisina, arginina y ornitina. Al cabo de 18 a 24 horas las colonias se caracterizan por tener un tamaño de 2 a 3 μm de diámetro salvo algunos serotipos que producen colonias enanas (Farmer *et al.*, 2007).

El rango de temperatura en el que son capaces de crecer es amplio, pudiendo crecer entre los 7°C a los 48°C, pero esta bacteria no es especialmente resistente al calor, inactivándose a temperaturas de 55°C tiene la capacidad de sobrevivir en alimentos congelados, aunque no hay una multiplicación por debajo de los 7°C y su temperatura óptima de crecimiento la encontramos entre los 35°C-37°C (Giaccone *et al.*, 2012).

Su pH óptimo se encuentra entre los 6,5-7,5, pudiendo crecer en un rango más amplio, de entre 4 a 9 (Cox, 1999). El estado óptimo en cuanto a actividad de agua (a_w) es 0,995, pero para crecer debe ser superior al 0,945. Gracias a su capacidad para tolerar altas concentraciones de sales biliares y crecer en presencia de colorantes como la fucsina, la eosina, el azul de metileno o el verde brillante, se han desarrollado medios de cultivos selectivos para su aislamiento. El reservorio natural de *Salmonella* es tracto digestivo de personas y animales, aunque tiene resistencia para sobrevivir en diferentes hábitats. Pueden sobrevivir largos periodos en el polvo o sobre materia orgánica, también son resistentes a la desecación (Baloda *et al.*, 2001).

En cuanto a taxonomía, antes de 1983 se aceptaba taxonómicamente la existencia de múltiples especies de *Salmonella*. Actualmente el género *Salmonella* está formado por dos especies, *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. A su vez, *Salmonella enterica* se subdivide en seis subespecies: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae* y *S. enterica* subsp. *indica* (Issenhuth-Jeanjean, *et al.*, 2014).

El género *Salmonella* spp. es el grupo más complejo de la familia de enterobacterias, consta con más de dos mil cuatrocientos serotipos descritos en el esquema Kauffman White, estos son determinados por la composición de los antígenos somáticos (O), flagelares (H), o de superficie (K). *S. enterica* subespecie *enterica* comprende el 99% de los serotipos aislados de muestras clínicas (Parra *et al.*, 2002).

En cuanto a nivel de estructura antigénica de *Salmonella* son básicamente similares a otras enterobacterias, con dos principales antígenos, el antígeno O (somáticos) son los antígenos de la pared bacteriana de naturaleza polisacárida y antígeno H (flagelares), constituidos por una proteína llamada flagelina cuya composición en aminoácidos es constante para un tipo antigénico determinado y que depende de los genes estructurales. La mayoría de las cepas del género *Salmonella* pueden expresar las dos especificidades de su antígeno H (difásicos), sin embargo, existen algunas que pueden expresar solamente una sola, ya sea la uno o la dos (monofásicas). En algunas cepas se encuentra un tercer tipo como antígeno de superficie, siendo análogo funcionalmente a los antígenos K de otros géneros, este antígeno es existente en *S. Typhi*, *S. Paratyphi* y *S. Dublin*.

La mayoría de los serotipos de *Salmonella* patógenos para el ser humano pertenecen a la subespecie *S. enterica* subsp. *enterica*, y se pueden encontrar habitualmente en humanos y animales de sangre caliente. Entre ellos se encuentra *Salmonella Typhi* y *Salmonella Paratyphi A, B y C*, causantes de las fiebre tifoideas y paratifoideas y numerosos serotipos no-tifoideos causante de gastroenteritis. El resto de subespecies se suelen encontrar en animales de sangre fría y en el ambiente (Kingsley *et al.*, 2000).

3.2 La salmonelosis como problema para la Salud Pública

En la Unión Europea (UE) la principal zoonosis transmitida por alimentos contaminados es *Campylobacter. Salmonella* se encuentra en segundo lugar. En 2016, último año

registrado, se registraron 94.530 casos de salmonelosis en la población de la UE y en el mismo año se registraron 9.818 casos en España (EFSA, 2017).

Los cinco serotipos notificados con mayor frecuencia en casos humanos en la UE durante 2016 fueron, en orden decreciente: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Typhimurium* variante monofásica (4, [5],12:i:-), *S. Infantis* y *S. Derby*. Entre ellos, un serotipo que cabe destacar debido a que su prevalencia ha ido en aumento, llegando a ocupar el tercer lugar en importancia de salmonelosis humana, es la variante monofásica de *S. Typhimurium* (*S. 4,[5],12:i:-*), actualmente considerada un serotipo emergente (EFSA, 2017).

En la UE, podemos observar un descenso general en los casos de salmonelosis a lo largo de los años, esto es debido principalmente a la aplicación de programas de control de salmonelosis aviar en Europa, dando lugar a un descenso importante de *S. Enteritidis*. En cuanto a la incidencia del serotipo *S. Typhimurium*, hubo un pequeño incremento entre los años 2005 y 2009, que, posteriormente se ha mantenido estable e incluso se puede observar una pequeña disminución de casos en los últimos años. Sin embargo, se aprecia un leve aumento general de los casos de salmonelosis en la UE (Figura 1).

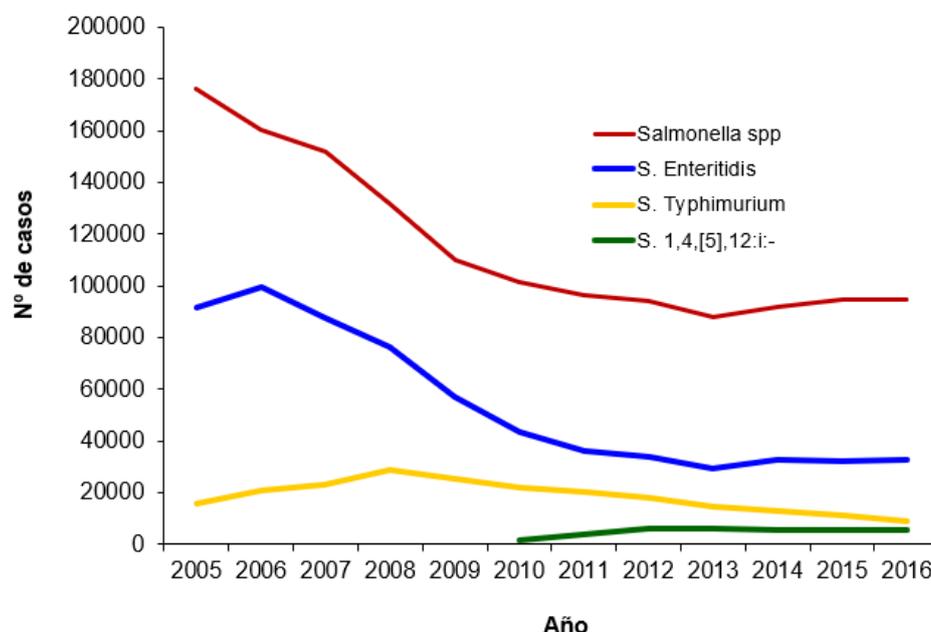


Figura 1: Evolución de los casos de salmonelosis humana en la UE 2005-2016.

En España, los serotipos implicados en infecciones por *Salmonella* spp. en humanos son los mismo que en la UE. En comparación con la UE, en España, encontramos un aumento en la incidencia de salmonelosis, siendo muy significativos el aumento de los casos en los últimos años (Figura 2). Hasta el año 2011 siempre ha habido más casos debidos al serotipo *S. Enteritidis*, pero a partir del 2011, se produjo una inversión de la tendencia con el serotipo *S. Typhimurium*, produciendo mayores casos de salmonelosis en humanos asociados a este último serotipo.

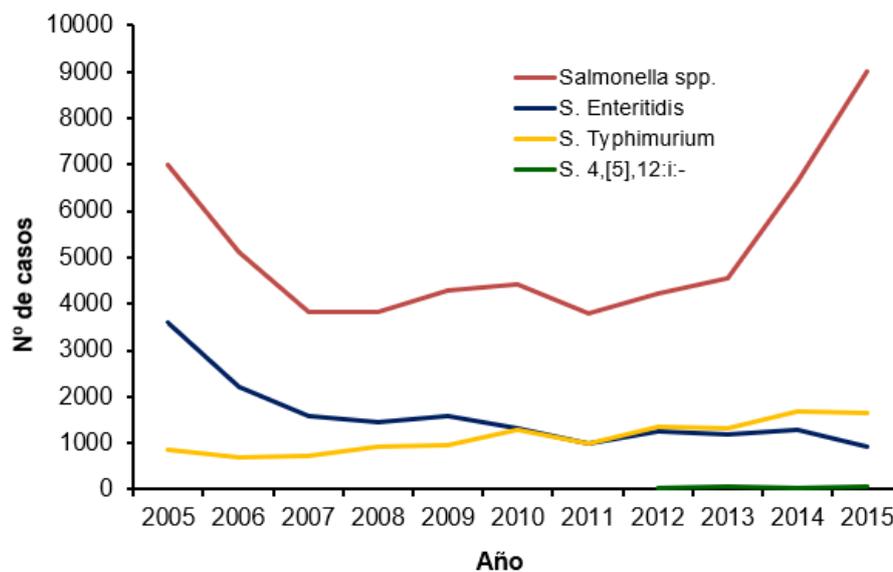


Figura 2: Evolución de los casos de salmonelosis humana en España 2005-2015.

3.3 Importancia del cerdo como fuente de infección

Los cerdos son susceptibles a la infección por una gran variedad de serotipos de *Salmonella*, siendo los más importantes *S. Choleraesuis* y *S. Typhimurium*. El serotipo *S. Choleraesuis* es capaz de provocar problemas de morbilidad y mortalidad altas, sin embargo, no se encuentran datos preocupantes de este serotipo en España ni en Europa, estando más asociado a casos en EE.UU. Por el contrario, del serotipo *S. Typhimurium* sí que se encuentran datos en España y a nivel Europeo, produciendo mayoritariamente infecciones de forma asintomática, por lo que no suele resultar en un problema patológico en los cerdos a nivel de granja, en comparación con las cepas de mayor virulencia que pueden llegar a causar graves problemas que se identifican primordialmente con un síndrome enterocolítico. Por lo tanto, el problema de control de la salmonelosis radica en

su apariencia asintomática en granja y su dificultad de detectar los síntomas clínicos en matadero, por lo que la difusión de la infección puede no ser evidente y pasar desapercibida.

La principal ruta de infección por *Salmonella* en el cerdo es la vía oral y por el contacto con heces de otros individuos que estén infectados, aunque también puede haber infección debido a otros mamíferos como aves, roedores, insectos, el hombre, agua y el ambiente de la granja entre otros. La salmonelosis no tifoidea puede darse en cerdos de cualquier edad. Para que esta bacteria sea capaz de llegar al intestino delgado, la dosis infectante debe de ser superior a 10^5 , y así poder superar la acidez del estómago y la acción bacteriostática de las sales biliares.

Esta especie animal juega así un papel como reservorio de *Salmonella* para la especie humana. La salmonelosis ha tenido un descenso en los últimos años, debido a que *S. Enteritidis* fue controlada con programas de control de salmonelosis aviar en Europa. Sin embargo los serotipos más frecuentes diagnosticados en los casos humanos tras *S. Enteritidis*, son *S. Typhimurium*, y su variante monofásica (*S.* 1,4,[5],12:i:-), asociados ambos al contacto con cerdos y al consumo de sus productos, por lo que se considera al cerdos como 2ª fuente de infección por detrás de la avicultura.

Para cumplir con la demanda del consumidor, las Agencias de Seguridad Alimentaria se ven obligadas a mantener unos niveles elevados de bienestar animal en las explotaciones, gracias, entre otros aspectos, a los programas de control de enfermedades zoonóticas más relevantes. Las autoridades sanitarias de la UE en 2003, tomaron la decisión de establecer programas específicos para la detección y control de la *Salmonella*, planteándose de una manera que abarcara toda las fases de la cadena alimentaria (estrategia conocida como “de la granja a la mesa”), estableciendo medidas restrictivas para aquellas explotaciones que no consigan los objetivos marcados (Directiva 2003/99/CE del 17 de noviembre de 2003 sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos y Reglamento (CE) N° 2160/2003 del 17 de noviembre de 2003 sobre el control de la *Salmonella* y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos).

3.4 Infecciones por Salmonella a lo largo de la cadena productiva

Una de las principales preocupaciones de los países industrializados, es el control y prevención de las zoonosis transmitidas por los alimentos. Resultados obtenidos de múltiples estudios, indican que los procedimientos higiénicos desde la granja hasta el matadero y durante el sacrificio son muy importantes para el control de *Salmonella*.

3.4.1 Influencia del estado en los cerdos al final del ciclo productivo

La contaminación por *Salmonella* se puede encontrar en todas las etapas de la cadena alimentaria. Sin embargo, la parte principal de la cadena de producción en la que se han enfocado los esfuerzos para su control ha sido el periodo de cebo, por lo que el objetivo de los programas nacionales de control se ha centrado en esta etapa.

Para conocer la prevalencia general de *Salmonella* en las granjas y su relación con el matadero, se han llevado a cabo estudios donde se analizaron contenido fecal y nódulos linfáticos mesentéricos de los cerdos sometidos a necropsia en granja y se compararon con los resultados obtenidos de los cerdos de la misma granja que fueron sacrificados en el matadero. Los resultados indicaron una prevalencia de *Salmonella* siete veces mayor en matadero que en la granja (Hurd *et al.*, 2005). Por lo tanto, cerdos infectados de granjas positivas a *Salmonella* constituyen un riesgo y pueden ser un vehículo para la excreción de *Salmonella* en etapas posteriores de la cadena de producción por lo que el estado final de sacrificio de los cerdos se ve afectado en gran medida por el estado de los cerdos en la granja.

A continuación, se exponen diferentes factores que afectan al estado de infección de los cerdos al final de la cadena de producción, teniendo una influencia significativa en la posible contaminación por *Salmonella* de las canales durante el sacrificio y posterior faenado en el matadero.

3.4.2 Transporte

El transporte se podría definir como una de las principales áreas de riesgo en la infección porcina, ya que los cerdos son llevados desde la granja hasta el matadero y un aumento en la prevalencia de *Salmonella* podría atribuirse a la contaminación cruzada durante el transporte. Uno de los principales factores de riesgo durante el transporte es el estrés que actuaría como promotor de la excreción de *Salmonella* por parte de los cerdos portadores. El estrés es debido a la manipulación de los cerdos, como en la carga, mezcla de cerdos desconocidos, alta densidad de población y cambios en el ambiente incluida la temperatura.

Otro de los factores de riesgo asociados a este periodo de transporte sería la abstinencia. Es una práctica generalizada previa al sacrificio en producción porcina que se lleva a cabo para facilitar la evisceración de la canal y reducir la proporción de carne PSE (Pale, Soft, Exudative). Consiste en privar a los animales de alimento durante las 12 a 24 horas antes del sacrificio. Sin embargo, la abstinencia de alimento puede crear estrés y trastornos intestinales, que pueden promover la excreción de *Salmonella* durante el transporte y alojamiento en los corrales de espera del matadero.

3.4.3 Estabulación en el matadero como factor de riesgo en la infección

Después de ser transportados desde la granja al matadero, los cerdos llegan estresados, de modo que la estabulación les proporciona un tiempo en el que permite a los cerdos que se recuperen del estrés del transporte, siendo esencial para la calidad de la carne. Los corrales de espera son uno de los lugares más importantes en cuanto a la infección por *Salmonella* en los cerdos (Hurd *et al.*, 2002). Varios factores lo convierten en uno de los puntos más arriesgados para la contaminación del cerdo, como son la propia suciedad de la piel del cerdo y la infección por la ruta oral entre otros.

Durante la estabulación, el principal problema de contaminación viene dado por los altos niveles de excreción de *Salmonella* por cerdos infectados, debido a factores de estrés que se producen durante el transporte como la variación de temperatura, una alta densidad de cerdos en el transporte y los ruidos. El tiempo que pasan los cerdos en el matadero depende del matadero, rutinas, logística, etc. y puede ser de hasta 24 horas, aunque son

más comunes periodos más cortos. Sin embargo, un periodo corto de tiempo de alrededor de 6 – 12 horas es tiempo suficiente para que la bacteria colonice el intestino del cerdo y pueda llegar a excretarse, ampliando la diseminación de la infección a otros cerdos sanos (Berends *et al.*, 1996).

Otro factor relacionado con la contaminación en la estabulación es el fallo de los protocolos de limpieza. Una limpieza insuficiente puede acarrear problemas en cuanto a infección de cerdos en los corrales. La limpieza a menudo consiste en la eliminación de la materia fecal mediante un lavado a alta presión con agua fría, pero esta práctica no termina de eliminar *Salmonella* del ambiente, por lo que los protocolos de limpieza podrían mejorarse.

En el caso de querer una limpieza más profunda y minimizar la contaminación por *Salmonella*, se debe realizar una pre-limpieza, la cual consiste en retirar la materia gruesa y suciedad más aparente mediante arrastre mecánico por agua u otros medios. A continuación, se realiza una limpieza aplicando detergentes y/o desengrasantes para desprender y disolver la suciedad y la grasa sobre la totalidad de las superficies durante un tiempo suficiente y con suficiente fuerza para intentar eliminar la presencia de biofilms bacterianos (se utiliza agua caliente para facilitar la eliminación de la grasa). Una vez terminada la fase anterior, se enjuaga la superficie para eliminar todo resto de detergente y suciedad, seguidamente se aplica el desinfectante sobre la superficie, dejándolo actuar durante el tiempo especificado, con el fin de que ejerza plenamente toda su acción para destruir todos los microorganismos presentes. Para finalizar, se retira el desinfectante con abundante agua potable, eliminando los restos de desinfectante de materiales y superficies en contacto con los animales y/o alimentos (FEDACOVA, 2011).

Debido a la dificultad para llevar a cabo todas estas operaciones durante la actividad del matadero, se suelen realizar una vez terminada la recepción y estabulación de los diferentes lotes de cerdos. Por ello, al final del día, al no haber realizado estas operaciones de limpieza y desinfección, los últimos lotes de cerdos pueden estar expuestos a un mayor riesgo de infección.

3.4.4 Factores que afectan a la contaminación de la canal

La canal del cerdo es un punto crítico en la cadena de producción debido a que su contaminación por *Salmonella* se puede dar en todas las etapas en la cadena del sacrificio

del cerdo y una vez contaminada puede alcanzar el producto terminado (filetes, costillas, jamón, etc.)

Estudios llevados a cabo en el matadero identificaron dos fuentes de *Salmonella* en la instalación del sacrificio: una de ellas es la presencia de cepas de *Salmonella* en el ambiente, ya presentes en la línea de sacrificio; la segunda se asociaría con la *Salmonella* introducida por cerdos infectados provenientes de las granjas. En cuanto a las cepas ya presentes en el ambiente, pueden formar parte de la flora resistentes (cepas domésticas), que constituirán una fuente de contaminación para las canales. Sin embargo, las cepas introducidas por los cerdos contaminados o infectados que entran a la línea de sacrificio son también altamente importantes (Giovannacci *et al.*, 2001).

La entrada continua de cerdos a la línea de sacrificio puede explicar el aumento de la contaminación a lo largo de la jornada laboral e incluso a lo largo de la semana. Estos resultados pueden ser la consecuencia de la ineficiencia de protocolos de limpieza utilizados, que facilitara la acumulación de *Salmonella* en el medio ambiente, o puede ser también debido al mal uso de las Buenas Prácticas de Fabricación (GMP, Good Manufacture Practices) por el personal. Las GMP son una herramienta básica para la obtención de productos seguros para el consumo humano, que se centralizan en la higiene y la forma de manipulación, por lo que dependen de la actitud y voluntad del personal.

Una vez los cerdos están dentro de la línea de sacrificio, ésta se puede dividir en dos zonas: sucia y limpia. La zona sucia es un área mecanizada donde se llevan a cabo los procesos de aturdimiento, matanza, sangrado, escaldado, depilado, pelado, pulido y afeitado. La zona limpia comprende las actividades de faenado de la canal, que al menos en parte se llevan a cabo manualmente por los trabajadores. Las fuentes de contaminación en ambas áreas son muy diferentes y se describen por separado a continuación.

3.4.4.a Contaminación de la canal en zona sucia

Cuando los cerdos son introducidos en la línea de sacrificio, son aturridos mediante el uso de dióxido de carbono (a diferencia del aturdimiento eléctrico en otras especies animales como el ovino o el caprino), pudiendo llevar a un aumento de la excreción de *Salmonella* a través de la evacuación de las heces después de que los músculos se relajen; posteriormente, son sacrificados y desangrados. Varios estudios han revelado altos niveles de contaminación en los cadáveres en el punto de exanguinación (Argüello *et al.*,

2013). Después de la exanguinación, se aplica una serie de procedimientos de calentamiento, lavado y abrasivos, que incluyen escaldado, depilado, chamuscado y pulido, para reducir la contaminación visual y microbiológica de la piel. Otro punto de contaminación en esta área es el contacto del personal con canales contaminadas de *Salmonella* y transferirlas a canales no contaminadas.

El escaldado puede ser una fuente importante de contaminación cruzada por *Salmonella*, por lo que debe incluirse como un punto de control verificable dentro de los programas de GMP y análisis de peligros y puntos de control críticos (HACCP), siendo la temperatura de escaldado crucial para el buen desarrollo de esta etapa. El escaldado se produce en baños de agua o duchas de vapor a temperaturas de 55 a 70°C. El agua que se utiliza generalmente se reutiliza, contaminándose con suciedad, heces y microorganismos transportados por el cerdo. Cuando la temperatura del agua es menor de 61 a 62°C o contiene grandes cantidades de materia orgánica, *Salmonella* puede aislarse del agua del tanque de escaldado. El depilado tiene la posibilidad de contaminación de las palas rotatorias de la peladora automática con materia orgánica, favoreciendo la dispersión. Después se produce un flameado, que reduce o elimina la contaminación externa. Posterior a todas estas etapas, las canales con y sin *Salmonella* entran a la zona limpia.

3.4.4.b Contaminación de la canal en zona limpia

En esta etapa, los cerdos portadores constituyen una segunda fuente de contaminación de *Salmonella*. Bajo una práctica adecuada de evisceración, solo las canales contaminadas externamente portan *Salmonella*. Sin embargo, cuando se produce una ruptura intestinal, la *Salmonella* que se encuentra en el aparato digestivo de cerdos portadores puede contaminar directamente a la canal e indirectamente a otras canales de cerdos no portadores. Además, después de la evisceración, las canales contaminadas con *Salmonella* son una fuente potencial de recontaminación para el medio ambiente. Por lo tanto, para evitar que lleguen canales contaminadas con *Salmonella* se deben llevar a cabo buenas prácticas de sacrificio en esta fase. Una vez que la línea está contaminada, *Salmonella* se puede encontrar en maquinaria y en el propio personal. Esta contaminación perdurara posiblemente hasta el final de la jornada laboral, cuando la línea se limpia y se desinfecta rutinariamente, por lo tanto, la contaminación cruzada debida a procedimientos

inapropiados es probable que ocurra ocasionalmente durante las horas de trabajo y se debe evitar en la mayor medida posible.

Para evitar la contaminación ambiental por *Salmonella*, es necesaria una limpieza y desinfección adecuada en la línea de producción. Para contribuir a la eliminación de *Salmonella* se realizan limpiezas de manos de manera continua, cambios de guantes y sistemas de uso mediante dos utensilios (mientras que una cuchilla está en uso y la otra se desinfecta en un baño de alta temperatura a aproximadamente 82°C). Unas de las maquinarias con mayores niveles de contaminación con *Salmonella* es la sierra divisoria de canales, que se relaciona con contaminación cruzada y establecimiento de una flora endémica.

Otra de las principales fuentes de contaminación de las canales son los tejidos contaminados de los cerdos infectados. Las amígdalas, el contenido del tracto gastrointestinal (especialmente el ciego, pero también el íleon o el colon) y los nódulos linfáticos, como los nódulos linfáticos mesentéricos e ileocecales en el tracto gastrointestinal y los nódulos linfáticos mandibulares o retrofaríngeos en la cabeza, con frecuencia albergan *Salmonella*.

Un estudio estimó que del 55% al 90% de toda la contaminación de la canal se produce durante la evisceración (Berends *et al.*, 1998). Por lo tanto, este punto deberá ser un punto crítico controlado por los sistemas HACCP y GMP. Para reducir el riesgo de propagación de *Salmonella* en este punto se utilizan técnicas como el sellado del recto.

En conclusión, a lo largo del proceso de sacrificio, si se aplica una correcta higiene, desde el sacrificio hasta la refrigeración, habrá una disminución constante en la prevalencia de *Salmonella*. Debido a que la contaminación por *Salmonella* en el matadero puede tener múltiples orígenes, es difícil evitar la introducción de *Salmonella* en la línea de sacrificio, pero si se puede evitar o reducir parte de la contaminación. Siempre habrá puntos en los que se logra reducir la prevalencia de *Salmonella* mientras que en otros actuarán como promotores de la contaminación si no se llevan a cabo medidas de control y prevención.

3.4.5 Utilización de ácidos orgánicos para el control de la salmonelosis

La utilización de ácidos orgánicos en la dieta de los cerdos o en el agua de bebida parece ser una buena estrategia para reducir la presencia de ciertos patógenos intestinales. El

ácido orgánico va actuar de dos maneras distintas, una de ellas, siendo la más importante, tiene la capacidad de atravesar la membrana celular y, tras disociarse en el citoplasma bacteriano, acidificar este, produciendo efectos adversos por la bajada del pH intracitoplasmático y alterando la síntesis de proteínas y ADN, produciendo así la muerte celular (Van Immerseel *et al.*, 2006).

Por otra parte, nos encontramos con diferentes mecanismos de acción de estos ácidos en el tracto gastrointestinal. En primer lugar, estimulan el crecimiento de células epiteliales. En segundo lugar, reducen el pH en los tramos anteriores del tracto gastrointestinal, produciendo un refuerzo de la barrera gástrica contra la entrada de *Salmonella* (Mroz *et.*, 2005).

Además, colabora en el mantenimiento del equilibrio intestinal, favoreciendo la proliferación de bacterias mucho más tolerantes a un ambiente ácido que *Salmonella*, como son las bacterias ácido lácticas. Este tipo de bacteria competirá contra la *Salmonella* por sustratos o por receptores de adhesión al epitelio y producirán también diversos péptidos (bacteriocinas) que inhiben el crecimiento bacteriano de *Salmonella* y otras bacterias patógenas.

Los ácidos orgánicos tienen una importante limitación para el control de *Salmonella*: su rápida absorción en los tramos proximales del aparato digestivo (estómago y duodeno). Es un problema debido a que *Salmonella* se adhiere y coloniza en mayor medida los tramos distales del intestino (íleon, ciego y colon). La solución a esta limitación pasa por la utilización de diversas tecnologías, como la microencapsulación o esterificación, que evitan que el ácido se disocie totalmente al inicio del tracto digestivo y pueda alcanzar así los tramos distales donde será más efectivo (Mainar-Jaime *et al.*, 2014).

Los ácidos normalmente utilizados son los ácidos grasos de cadena corta (como el fórmico, propiónico, acético y butírico) por su importante efecto inhibitorio contra *Salmonella*. Sin embargo, algunos estudios, apuntan también a un efecto inhibitorio importante de los ácidos grasos de cadena media (como el caprónico, caprílico y cáprico). Por lo tanto, sería la mezcla de varios ácidos orgánicos la que ofrecería mejores resultados frente a *Salmonella*.

4. OBJETIVOS

La salmonelosis es la segunda zoonosis de transmisión alimentaria más importante de la UE (EFSA 2017). España es líder en prevalencia de salmonelosis porcina siendo uno de los principales exportadores de carne de cerdo y la tercera potencia en el comercio mundial de los productos del porcino, vendiendo en más de 130 países, llegando a alcanzar cifras de exportaciones de 1,73 millones de toneladas de carne y despojos (INTERPOC, 2016). Todo ello, provoca que sea necesario tomar medidas rigurosas para el control de *Salmonella* a lo largo de la cadena productiva, debido a que un problema de Salud Pública asociado a *Salmonella* podría acarrear barreras sanitarias a la comercialización, con las pertinentes consecuencias negativas para todo el sector porcino.

La mayoría de estudios para el control de la salmonelosis en cerdos se han llevado a cabo en la fase de cebo. Sin embargo, la excreción de *Salmonella* en las heces de los cerdos a la llegada del matadero es una fuente importante de contaminación del propio matadero y de la superficie de la canal. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar la posibilidad de reducir los niveles de excreción de *Salmonella* en las heces de los cerdos en el matadero a través del uso de un ácido orgánico esterificado en el agua de bebida en los corrales de espera previos al sacrificio.

5. METODOLOGÍA

El estudio se llevó a cabo en un matadero de Huesca durante el año 2017. Para realizar este estudio, se seleccionaron 5 granjas en las que se sabía que los cerdos podrían tener una elevada prevalencia de *Salmonella* gracias a registros anteriores del propio matadero. Los cerdos a analizar en cada ensayo provenían de una misma granja y fueron transportados al matadero en un mismo camión. Al llegar al matadero se separaron en dos grupos de 40 cerdos cada uno en dos corrales de espera; a uno de estos grupos se les proporcionó agua sin tratar (grupo Control-GC), mientras que a otro se le proporcionó el agua tratada por el ácido orgánico esterificado (grupo Tratado-GT) (Figura 3).

5.1 Diseño del estudio

En la Figura 3 se presenta el esquema del estudio realizado.

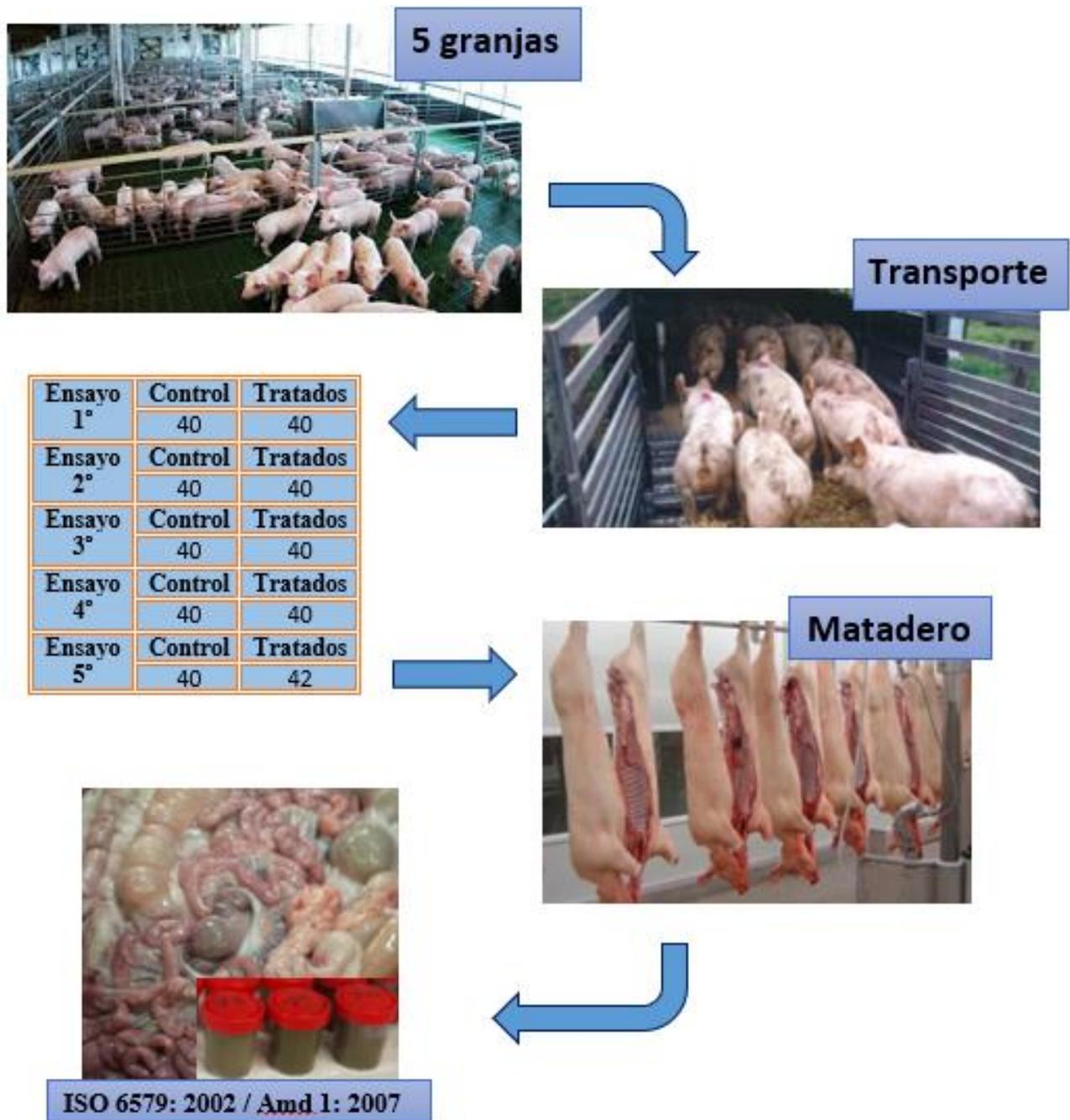


Figura 3: Diseño experimental realizado en este estudio

Tras un periodo de espera de 10-14 horas, éstos fueron llevados al sacrificio, y en la etapa de evisceración, se recogieron muestras de heces directamente del paquete intestinal de los cerdos de ambos grupos, para determinar la presencia de *Salmonella* (ISO 6579: 2002 / Amd 1: 2007).

Dado que el efecto del consumo total de agua de los cerdos pudo ser un factor importante en los resultados, también se estimó el consumo de agua en cada grupo tratado.

5.2 *Ácido orgánico utilizado*

El ácido orgánico utilizado para esta prueba de campo fue un ácido fórmico monoesterificado para nutrición animal, formado por ácido fórmico esterificado en forma de glicerol principalmente en forma de 1-monoglicérido (MOLI MC1, Molimen SL, Barcelona, España) añadido a una dosis de 10 kg / 1000 l de agua.

De acuerdo con el fabricante, este ácido tendría diferentes propiedades: un potente poder antimicrobiano (bacterias, hongos y levaduras) a nivel de todo el tracto gastrointestinal (desde el estómago, intestino delgado, grueso hasta el colon); resistente a un amplio pH, desde 3,5 hasta 7; no volátil, soluble en agua e inodoro.

El modo de actuación de este ácido orgánico está basado en la alteración del pH intracelular, lo que produce una alteración tanto de la permeabilidad de la célula, como de la expresión genética y la actividad microbiana de la célula. También tiene la capacidad de inhibir el consumo de oxígeno intracelular.

Su actividad antimicrobiana tendría influencia sobre los siguientes microorganismos:

- **Gram (-)**

 - Escherichia coli*

 - Salmonella enterica*

 - Clostridium perfringens*

 - Campylobacter*

- **Gram (+)**

 - Staphylococcus aureus*

 - Streptococcus suis*

- **Hongos y levaduras**

 - Fusarium moniliforme*

 - Candida albicans*

5.3 Análisis laboratoriales

Para realizar los análisis microbiológicos de este estudio, se siguió el protocolo de la norma ISO 6579: 2002 / Amd 1: 2007 (figura 4). Todas las muestras fecales recogidas en el matadero fueron transportadas en refrigeración al laboratorio y se analizaron el mismo día. El esquema de la norma ISO con los diferentes pasos se muestra en la siguiente figura (figura 4).

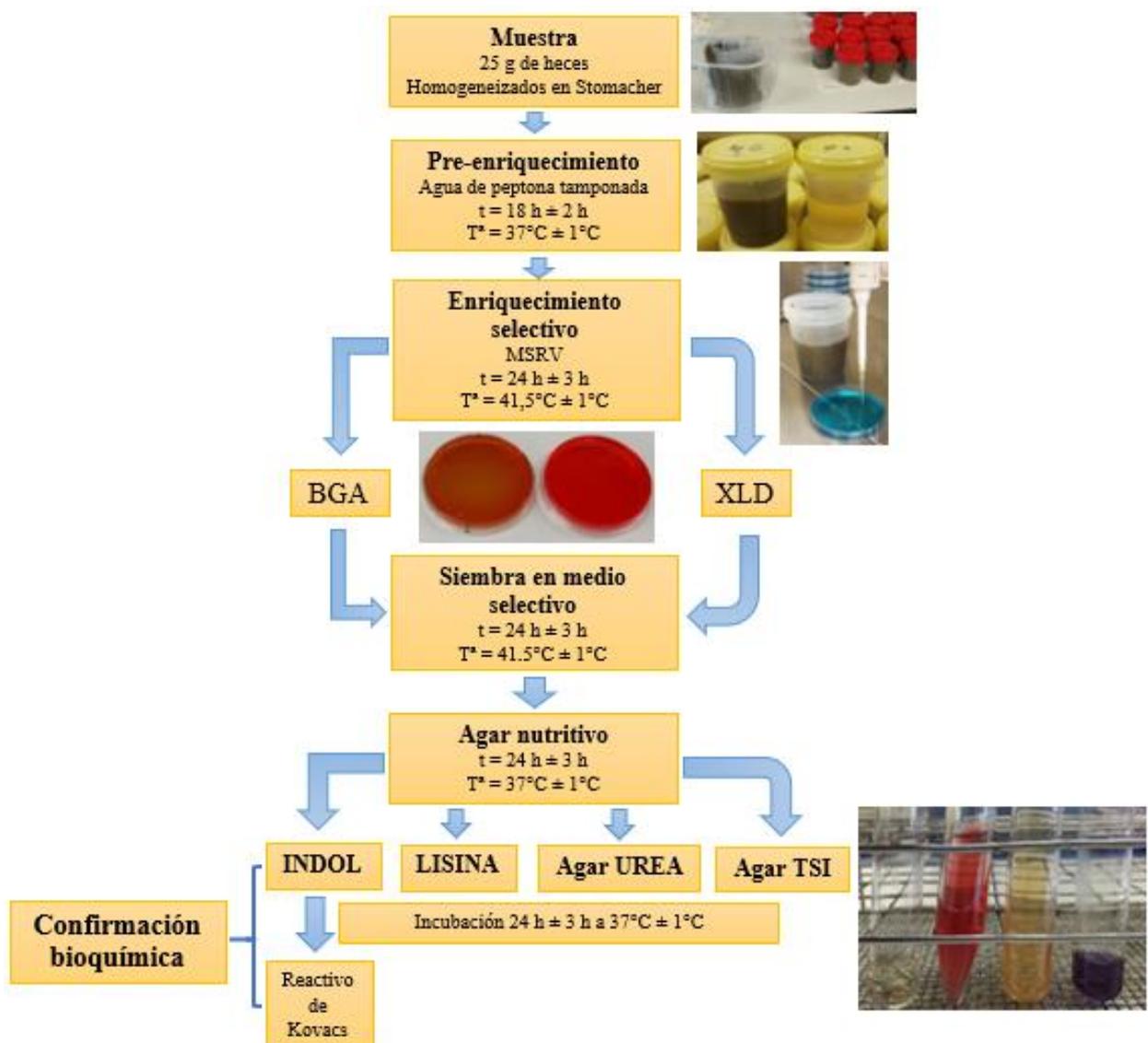


Figura 4: Esquema de la Norma ISO 6579: 2002 / Amd 1: 2007

En el momento de sacrificio, se retira el paquete gastrointestinal del cerdo y se extraen muestras de heces del intestino grueso, enumerándolas de tal manera que queden claramente diferenciadas al grupo al que permanecen, Control o Tratados.

Una vez llegados al laboratorio, se comenzó el procesado y análisis de las muestras mediante la Norma ISO, que brevemente consiste en los siguientes pasos: se realiza la fase de Pre-enriquecimiento, mezclándose 25 gramos de heces de un cerdo con 225 ml de Agua de Peptona Tamponada y se homogeneiza en el *Stomacher*. Se incuba un tiempo de $18 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ y a una temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Una vez pasado el tiempo de incubación, se inocula 100 μl de la muestra de la parte más externa y superficial posible evitando la capa de materia orgánica (debido a que *Salmonella* es un microorganismo con flagelos (móvil) y anaerobio facultativo, por lo que tendera a subir al exterior) y se reparte en 3 partes iguales en el medio de enriquecimiento selectivo (MSRV), manteniendo en un periodo de incubación de $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$ y a una temperatura de $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. A la misma vez que se inoculan 100 μl de la muestra al cultivo MSRV, se cogen otros 2 ml de la muestra transfiriéndolas a unos tubos *ependorf* que se utilizaran de reserva en caso de problema, adicionándoles glicerol con el fin de proteger a *Salmonella* cuando se congele la muestra (debido a que el glicerol actúa como crioprotector), enumerándose de la misma manera que se ha hecho anteriormente para no perder la trazabilidad de las muestras.

Tras haber pasado el tiempo de incubación con el MSRV, se observa el crecimiento que se ha llevado a cabo en el cultivo y la forma del crecimiento. *Salmonella*, al ser un microorganismo flagelar (móvil), tiene un crecimiento en forma circular rodeando el punto de inoculación. Las muestras identificadas en esta 1ª visualización como negativas frente a *Salmonella* se dejarán incubando 24 horas más para asegurar la muestra como negativa. A continuación, de cada una de las muestras presuntamente positivas, se toma 10 μl con un asa de siembra de la parte más exterior posible del halo de crecimiento, sembrándose por agotamiento en dos medios de aislamiento selectivos, BGA (Brilliant Green Agar) y XLD (Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar). Éstos se incuban durante $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$ y a una temperatura de 37°C .

Transcurridas 24 horas de cultivo, habrá que realizar pruebas bioquímicas para confirmar que las colonias sospechosas son *Salmonella*. Para ello se realizarán las pruebas del INDOL (se añade el reactivo de Kovacs), LISINA, Agar TSI y Agar UREA. Estas pruebas bioquímicas se dejarán incubando un periodo de $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$ a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. Una vez pasado este tiempo, podemos comprobar el resultado en la siguiente tabla (tabla 1).

Prueba	Reacción	% de bacterias que reaccionan
Indol	-	98,9
Descarboxilación de lisina	+	94,6
Descomposición de urea	-	99
TSI: ácido de glucosa	+	100
TSI: gas de glucosa	+	91,9
TSI: lactosa	-	99,5
TSI: sacarosa	-	99,5
TSI: sulfuro de hidrogeno	+	91,6

Tabla 1: Pruebas de confirmación de *Salmonella*

5.4 Análisis estadísticos

La prevalencia de *Salmonella* se comparó entre los grupos tratados y no tratados mediante la prueba de Fisher. Una diferencia se consideró estadísticamente significativa si $p \leq 0,05$. Posteriormente, se realizó un análisis global de todas las pruebas realizadas mediante análisis de regresión logística. El fin de este análisis fue determinar el efecto global del tratamiento sobre la excreción de *Salmonella*, tras ajustar por factores tales como ensayo, consumo de agua, etc. Para este análisis las diferentes pruebas realizadas se clasificaron en las siguientes categorías:

- Consumo de agua entre 0,5-1 litro/cabeza
- Consumo de agua > 1 litro/cabeza

El riesgo de excretar *Salmonella* en el grupo control comparado con el grupo tratado se estimó mediante el cálculo del *Odds Ratio* (OR).

6. RESULTADOS

Se realizaron cinco ensayos para valorar la eficacia de este producto. La información más relevante de los ensayos se presenta en la tabla 2.

Tabla 2: Ensayos realizados

	1° ENSAYO	2° ENSAYO	3° ENSAYO	4° ENSAYO	5° ENSAYO
Fecha	03/05/2017	09/05/2017	06/11/2017	21/11/2017	28/11/2017
Origen	Huesca	Lérida	Huesca	Huesca	Huesca
Llegada matadero	20:00h	22:10h	17:00h	13:30h	13:00h
Sacrificio	10:15h	08:00h	10:30h	13:30h	13:00h
Litros consumidos	50 l.	25 l.	36 l.	56 l.	32 l.
Litros/cerdo	1,25 l.	0,62 l.	0,90 l.	1,40 l.	0,76 l.
Nº animales tratados	40	40	40	40	42
Nº animales control	40	40	40	40	40

A continuación, en la tabla 3 se observan los resultados de los grupos Control y Tratado de los diferentes ensayos.

Tabla 3. Proporción de cerdos excretores en el grupo control y tratado con ácidos en cada ensayo.

	<u>Grupo Control</u>			<u>Grupo Tratado</u>			<i>p</i> *
	Nº	% (+)	IC 95%	Nº	% (+)	IC 95%	
Ensayo 1	40	32,5	20,1-47,9	40	7,5	2,6-19,8	0,01
Ensayo 2	40	95	83,5-98,6	40	85	70,9-92,9	0,26
Ensayo 3	40	22,5	12,3-37,5	40	15	7,1-29,1	0,39
Ensayo 4	40	42,5	28,5-57,8	40	30	18,1-45,4	0,35
Ensayo 5	40	95	83,5-98,6	42	61,9	46,8-75	0,0003

*Prueba de Fisher

Los ensayos 1 y 5, mostraron una diferencia significativa en la reducción de la excreción de *Salmonella* entre el grupo control y el grupo tratado. En ambos casos el grupo tratado presentó una menor proporción de cerdos excretores de *Salmonella*.

En cuanto a los ensayos 2, 3, 4, no se observaron diferencias significativas entre los grupos analizados.

Debido a que el consumo de agua por cerdo pudo afectar a la efectividad del producto utilizado, en la tabla 4 se observa la diferencia entre ambos grupos en función del consumo de agua. Se observa que la diferencia en la proporción de cerdos excretores de *Salmonella* entre el grupo control y tratado fue similar para el grupo que había consumido entre 0.5-1 L de agua como para el grupo que consumió más agua (>1 L).

Tabla 4: Resultados de ambos grupos en función del consumo de agua.

Litros consumidos	<u>Grupo Control</u>			<u>Grupo Tratado</u>			Dif*
	Nº	% (+)	IC 95%	Nº	% (+)	IC 95%	
0.5-1 L	120	70,83	62,2 - 78,2	122	54,10	45,3 – 62,7	16,73
> 1 L	80	37,50	27,7 - 48,4	80	18,75	11,7 – 28,7	18,75

* Diferencia entre la proporción de excretores del grupo control y grupo tratado.

Cuando se analizaron todos los resultados de forma conjunta mediante el análisis de regresión logística y tras ajustar por la variable “ensayo” se observó una reducción global y significativa de la proporción de excretores en el grupo tratado con respecto al grupo control. El riesgo de excretar *Salmonella* (medido en forma de OR) fue aproximadamente el triple en el grupo control comparado con el grupo tratado con ácidos (OR= 3,15; IC95%: 1,85 - 5,34). Considerando los 5 ensayos de forma conjunta se encontró una diferencia significativa en la reducción de la excreción de *Salmonella* en el grupo tratado con respecto al grupo control de un 17% aproximadamente (57,5% en el GC vs.40,1% en el GT; $p < 0,01$).

7. DISCUSIÓN

La probabilidad de que los cerdos infectados puedan excretar *Salmonella* mientras se encuentran a la espera del sacrificio en los corrales de los mataderos es elevada. La excreción de *Salmonella* viene dada por diferentes motivos, los cerdos pueden venir infectados desde la explotación, siendo los factores de estrés como el transporte, mezcla con otros cerdos, o las altas temperaturas, los que les motivan a excretar un mayor contenido de *Salmonella*. Otro motivo por el cual puede haber una mayor excreción de *Salmonella*, es que el propio cerdo sano se infecte los días previos al sacrificio o incluso en las horas previas. Cuando a los cerdos se les somete a un fuerte estrés, aumenta la

susceptibilidad a la infección, provocando que un cerdo sano acabe infectado y excretando. El presente trabajo estudiaba la posibilidad de reducir la probabilidad de excreción de *Salmonella* en todos ellos. Para ello se evaluó si la adición de ácido fórmico esterificado (un producto con aparente actividad microbicida) al agua de bebida en los corrales de espera del matadero podría servir para reducir la excreción de *Salmonella*.

Las granjas seleccionadas para la realización de este estudio se basaron en los registros de seroprevalencia frente a *Salmonella* disponibles en el matadero. Para llevar a cabo adecuadamente este estudio se requería que se cumplieran dos condiciones. La primera era que los cerdos bebieran suficiente agua tratada como para que el ácido orgánico pudiera tener un efecto; la segunda, que los niveles de infección de *Salmonella* fueran relativamente altos para poder observar diferencias en la proporción de excretores entre los grupos en el caso de que el tratamiento funcionara.

El consumo de agua de un cerdo durante la espera en el matadero era desconocido, pero seguramente variará en función de factores como el acceso a la misma (disponibilidad de bebederos), la época del año (invierno vs. verano, por ejemplo), etc. Como todos los ensayos se realizaron al final del invierno inicio de la primavera, con temperaturas todavía frías, la estación del año no se consideró un factor importante, aunque igualmente se optó por registrar el consumo de agua en el grupo tratado (el único lugar donde se podía valorar) y evaluar así su impacto en los resultados. Por otro lado, la prevalencia de excreción en los grupos control fue en general bastante alta en todos los grupos.

Aunque, como se observa en la tabla 3, la reducción en la proporción de excretores fue ligeramente superior en el grupo que consumió más agua (18,75% vs. 16,73%), esta diferencia no fue significativa, lo que sugiere que un consumo medio de aproximadamente medio litro más por animal no se asoció con una mayor reducción de la excreción de *Salmonella*. Quizás con consumos más altos de agua en épocas más calurosas pueda observarse una mayor reducción, pero para ello habrá que realizar nuevos estudios, idealmente a lo largo del año para reflejar esas posibles diferencias.

El producto utilizado, se ha pensado fundamentalmente para su uso por tiempos más prolongados durante la fase de cebo, aplicándose a dosis más bajas. En el presente estudio se aplicó en un tiempo mucho más corto en el propio matadero, por lo que se aumentó la

dos. Quizás una de las dificultades que surgió en este estudio, era saber el tiempo necesario que deberían permanecer los cerdos en la sala de espera con el tratamiento, para observar resultados positivos. Por ello se planteó la necesidad de que los cerdos estuvieran al menos toda la noche en las salas de espera antes de su sacrificio, ello permitiría aumentar la probabilidad de que bebieran agua. Los cerdos analizados pasaron una media de 15 horas en el matadero antes de ser sacrificados.

Con todo estos condicionantes, en general se observaron unos resultados favorables, pues en todos los ensayos se detectó una reducción de la proporción de animales excretores en el grupo tratado con respecto al control, aunque solo en dos casos estas diferencias fueron significativas. En el primer ensayo, se observó una reducción significativa de los niveles de excreción de *Salmonella* en el grupo tratado con respecto al control (7,5% vs. 32,5%). En el segundo, tercero y cuarto ensayo también se observa una reducción, aunque no fue estadísticamente significativa. En el quinto ensayo, se observa una reducción muy significativa aun habiendo consumido menos de 1L/cabeza. Esta tendencia general de reducción de la excreción se detecta en el análisis global, que si mostró una diferencia significativa entre los grupos tratados y control.

Este análisis mostró una reducción general de la prevalencia de excreción en el grupo tratado con respecto al grupo control de un 17%. Sin ser esta una gran diferencia, sí que podría ayudar a mitigar en parte la probabilidad de contaminación del matadero debido a los cerdos que llegan excretando *Salmonella* al matadero.

Debido a que biológicamente tendría sentido que un mayor consumo de agua tratada tuviera un efecto mayor en la reducción de *Salmonella*, es posible que en épocas de altas temperaturas, cuando los cerdos se espera que consuman más agua, esta reducción pudiera ser incluso mayor. Harán falta más estudios para evaluar esta hipótesis.

8. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio presentan las primeras evidencias de que el tratamiento del agua con un ácido orgánico (ácido fórmico esterificado) podría ayudar a

reducir los niveles de excreción de *Salmonella* de los cerdos en los corrales de espera del matadero. Esa reducción podría ser al menos del 17% con respecto a cerdos no tratados. Posiblemente una manera de confirmar estos resultados sería realizando más ensayos en verano y con más bebederos disponibles, con el objetivo de aumentar el consumo de agua en los cerdos.

9. CONCLUSION

The results obtained in this study present the first evidence that the treatment of water with an organic acid (esterified formic acid) could help to reduce the *Salmonella* shedding of pigs in the lairage of the slaughterhouse. This reduction may reach up to 17% with regard to non-treated pigs. Possibly one way to confirm these results would be to carry out more tests in summer and with more available troughs, with the aim of increasing the water consumption in pigs.

10. VALORACION PERSONAL

La realización de este trabajo ha supuesto un aprendizaje y una experiencia en cuanto a técnicas de análisis y realización de tareas en mataderos. Durante su desarrollo pude observar cómo se lleva a cabo la carnización dentro del matadero, como todas medidas higiénicas que se realizan. Tuve la oportunidad de ir a un centro de investigación (CITA) donde pude observar como trabajaban profesionales del sector.

Durante el desarrollo de este proyecto he aprendido más sobre las enfermedades zoonóticas y el problema que suponen para las personas, ya que estas pueden ocasionar problemas para las personas. Dentro de estas patologías, cabe destacar las que se transmiten por vía alimentaria, ya que causan muchas enfermedades a lo largo del año.

Especialmente, he aprendido más acerca de *Salmonella* como un problema en la Salud Pública, obteniendo conocimiento sobre esta, que anteriormente a este trabajo, desconocía. Por otro lado, he podido observar la dificultad de redactar un texto científico, gracias a la ayuda de Alejandro Casanova Higes y Raúl Carlos Mainar Jaime he podido llevar a cabo este trabajo de fin de grado adecuadamente, dándome a conocer un sector tan importante como es, el porcino.

11. BIBLIOGRAFÍA

Arguello H., Alvarez-Ordoñez A., Carvajal A., Rubio P., Prieto M. (2013). Role of Slaughtering in *Salmonella* Spreading and Control in Pork Production. *J. Food Prot.*, 76: 899–911.

Arguello H., Carvajal A., Collazos J.A., Garcia-Feliz C., Rubio P. (2012). Prevalence and serovars of *Salmonella* entérica on pig carcasses, slaughtered pigs and the environment of four Spanish slaughterhouses. *Food Res Int*, 45: 905-912.

Arguello H., Carvajal A., Rubio P. (2016). Avances en el control de la salmonelosis porcina en España. Estrategias de control en granjas: la utilización de los ácidos orgánicos y la vacunación. *SUIS*, 124: 28-35.

Berends, B. R., F. Van Knapen, D. A. Mossel, S. A. Burt, and J. M. Snijders. (1998). Impact on human health of *Salmonella* spp. on pork in The Netherlands and the anticipated effects of some currently proposed control strategies. *Int. J. Food Microbiol.* 44:219–229.

Berends, B. R., H. A. Urlings, J. M. Snijders, and F. Van Knapen. (1996). Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. *J. Food Microbiol.* 30: 37–53.

Cox J (1999). *Salmonella*/Introduction. En *Encyclopaedia of Food Microbiology*, Academic Press, London, United Kingdom, pp. 1925-1937.

Creus E., Andrés-Barranco S., y Mainar-Jaime R.C. (2014). Actualización en el control de la salmonelosis porcina a través de la alimentación (I). *Av Tecnol porc*, XI 10: 36-47.

Creus E., Andrés-Barranco S., y Mainar-Jaime R.C. (2014). Actualización en el control de la salmonelosis porcina a través de la alimentación (I). *Av Tecnol porc*, XI 11: 34-45.

EFSA (2015). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA Journal*, 4329: 32-67.

EFSA (2016). The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2015. *EFSA Journal*, 4380: 25-180.

EFSA (2017). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal*, 5077: 228.

Report of a joint FAO/WHO expert meeting (2015) Interventions for the Control of Nontyphoidal *Salmonella* spp. in Beef and Pork. Rome, Italy: *J. Food Microbiol.* 30.

FEDACOVA (2011). Guía de prácticas correctas de higiene del sector cárnico. Disponible en línea: https://www.fedacova.org/wp-content/uploads/2017/03/GUIA-CARNE_julio16.pdf [Consultado 19/05/2018].

Giaccone V, Catelleni P, Albergini L (2012). Food as cause of human salmonellosis. Padua, Italy: *J. Food Microbiol.* 30: 47-72.

Giovannacci, I., S. Queguiner, C. Ragimbeau, G. Salvat, J. L. Vendevre, V. Carlier, and G. Ermel. (2001). Tracing of *Salmonella* spp. in two pork slaughter and cutting plants using serotyping and macrorestriction genotyping. *J. Appl. Microbiol.* 90:131–147.

Hurd, H. S., J. D. McKean, R. W. Griffith, I. V. Wesley, and M. H. Rostagno. (2002). Salmonella enterica infections in market swine with and without transport and holding. Appl. Environ. Microbiol. 68:2376–2381.

Hurd, H. S., J. K. Gailey, J. D. McKean, and R. W. Griffith. (2005). Variable abattoir conditions affect Salmonella enterica prevalence and meat quality in swine and pork. Foodborne Pathog. Dis. 2:77– 81

Funk J.A., Gebreyes W.A. (2004). Risk factors associated with Salmonella prevalence on swine farms. Swine Health Prod, 12: 246-251.

INTERPORC (2016). Actualidad INTERPORC. España se consolida como uno de los principales países exportadores de carne y elaborados de cerdo. Disponible en línea: <http://interporc.com/20160301evolucionexportaciones2015.htm>[Consultado08/05/2018]

Kingsley RA y Baumler AJ (2000). Host adaption and the emergence of infectious disease: The *Salmonella* paradigm. Mol Microbiol, 36: 1006-1014.

Mainar-Jaime R.C., Creus E. (2010). Salmonelosis en las explotaciones porcinas. Características e importancia de la infección en el cerdo. SUIS, 67: 52-58.

Mainar-Jaime R.C., Creus E. (2010). Salmonelosis en las explotaciones porcinas. Dinámica de la transmisión en las explotaciones porcinas. SUIS, 68: 40-48.

Mainar-Jaime R.C., Creus E. (2010). Salmonelosis en las explotaciones porcinas. Métodos de diagnósticos. SUIS, 69: 44-53.

Mainar-Jaime R.C., Creus E. (2010). Salmonelosis en las explotaciones porcinas. Estrategias de control. SUIS, 70: 48-55.

Mainar-Jaime R.C., Iguácel-Soteras F., et al. (2011). Bases para el control de la salmonelosis en las explotaciones porcinas. Dirección General de Desarrollo Rural, 231: 2-19.

Mejia W., Casal J., Zapata D., Sánchez G.J., Martín M., Mateu E. (2006). Epidemiology of *Salmonella* infections in pig units and antimicrobial susceptibility profiles of the strains of *Salmonella* species isolated. *Vet Rec*, 159: 271-276.

Mroz Z (2005). Organic Acids as Potential Alternatives to Antibiotic Growth Promoters for Pigs. *Advances in Pork Production*, 16:169-182.

NutriNews (2018). Los ácidos grasos monoesterificados en nutrición animal. *NutriNews*. Disponible en línea: <https://nutricionanimal.info/los-acidos-grasos-esterificados-nutricion-animal/> [Consultado 25/04/2018].

Parra M., Durango J., Máttar S. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. *MVZ-Córdoba*, 7: 187-200.

Van Immerseel F., Russell J.B., Flythe M.D., Gantois I., Timbermont L., Pasmans F., Haesebrouck F., Ducatelle R. (2006). The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. *Avian Pathol*, 35: 182-188.

Vico J.P., Rol I., Garrido V., San Román B., Grilló M.J., Mainar-Jaime R.C. (2011). Salmonellosis in Finishing Pigs in Spain: Prevalence, Antimicrobial Agent Susceptibilities, and Risk Factor Analysis. *J Food Protect*, 74: 1070-1078.