

ORIGINAL

## Prevalence of *Salmonella* spp., in mesenteric pig's ganglia at Colombian benefit plants

### Prevalencia de *Salmonella* spp., en ganglios mesentéricos de porcinos en plantas de beneficio Colombianas

Carlos Ayala-Romero<sup>1</sup> Microb. Ind, Carlos Ballen-Parada<sup>1</sup> Microb Ind, Mónica Rico-Gaitán<sup>1</sup> Microb Ind, Iliana Chamorro-Tobar<sup>2</sup> Microb Ind, Diana Zambrano-Moreno<sup>2</sup> Ph.D, Raúl Poutou-Piñales<sup>3</sup> Ph.D, Ana Carrascal-Camacho<sup>1\*</sup> M.Sc.

<sup>1</sup>Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Departamento de Microbiología, Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI), Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Bogotá, D.C., Colombia. <sup>2</sup>Asociación Colombiana de Porcicultores, Fondo Nacional de la Porcicultura, Centro de Investigación y Transferencia de Tecnología del Sector Porcícola (CENIPORCINO), Bogotá, D.C., Colombia. <sup>3</sup>Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Departamento de Microbiología, Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI), Laboratorio de Biotecnología Molecular, Bogotá, D.C., Colombia. \*Correspondence: [acarrasc@javeriana.edu.co](mailto:acarrasc@javeriana.edu.co)

Received: June 2017; Accepted: December 2017.

#### ABSTRACT

**Objective.** To determine the prevalence of *Salmonella* spp., in pigs mesenteric ganglion, from different regions of Colombia. **Materials and Methods.** A stratified sampling by proportional fixation was carried out at benefit plants of each of the 13 participating departments, whose pork production volume is representative at national level. Sampling was performed during five months, for a total of 457 samples analyzed. *Salmonella* spp., identification was performed by the MDS Molecular System, later isolates were confirmed in Maldi-TOF MS. Antimicrobial susceptibility of the isolates was determined using the B1016-180 panel and statistical analysis was performed in Whonet 2016, some of the multi-resistant isolates were them serotyped by Kauffman-White method. **Results.** National prevalence was 28.2%, with the presence of *S. Typhimurium*, *S. Agama*, *S. London*, *S. Agona*, *S. Haifa* and *S. 1,4,12: i: -*. Resistance to antibiotics frequently used in human (23.6% Trimethoprim/Sulfamethoxazole, 2.7% Cefotaxime (CTX), 11.8% Ampicillin (AMP) and 1.8% Ciprofloxacin) was found. **Conclusion.** The prevalence of *Salmonella* in mesenteric ganglia was 28.2%, being the Huila region the one with the highest prevalence, recovering atypical serotypes such as *S. London* and *S. Haifa*.

**Keywords:** Antibiotic, mesenteric ganglion, porcine, resistance, *Salmonella* spp. (Source: SPINES, GEMET, DeCS).

#### RESUMEN

**Objetivo.** Determinar la prevalencia de *Salmonella* spp., en ganglios mesentéricos de porcinos, provenientes de diferentes regiones de Colombia. **Materiales y Métodos.** Se realizó un muestreo estratificado por fijación proporcional en plantas de beneficio, de cada uno de los 13 departamentos participantes, cuyo volumen de producción de carne de cerdo es representativo a nivel nacional. El muestreo se realizó durante cinco meses, para un total de 457 muestras analizadas. La identificación de *Salmonella* spp., se realizó mediante el Sistema Molecular MDS, luego los aislamientos fueron

confirmados por Maldi-TOF MS. Se determinó la susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos usando el panel B1016-180 y el análisis estadístico se realizó en Whonet 2016, posteriormente algunos de los aislamientos multi-resistentes fueron serotipificados por el método de Kauffman-White. **Resultados.** La prevalencia nacional fue 28.2%, con presencia de los serotipos *S. Typhimurium*, *S. Agama*, *S. London*, *S. Agona*, *S. Haifa* y *S. 1,4,12: i : --*. Se encontró resistencia a antibióticos de uso frecuente en humanos (23.6% Trimetoprim/Sulfametoxazol, 2.7% Cefotaxime (CTX), 11.8% Ampicilina (AMP) y 1.8% Ciprofloxacina). **Conclusión.** La prevalencia de *Salmonella* en ganglios mesentéricos fue del 28.2%, siendo la región del Huila la que más aportó, se recuperaron serotipos atípicos como *S. London* y *S. Haifa*

**Palabras clave:** Antibiótico, ganglio mesentérico, porcino, resistencia, *Salmonella* spp. (Source: SPINES, GEMET, DeCS).

## INTRODUCTION

*Salmonella* spp. has been identified as one of the biggest culprits in foodborne illness; therefore it is an important cause of gastroenteritis in humans (1). *Salmonella* can be present in fowl intestines (chicken and turkey), reptiles, turtles, and pig. The most important sources are contaminated foods (2). Increase in *Salmonella* spp. incidence has a great impact on public health, as well as animal health. Moreover, it has been associated with microorganism dissemination through animal chain production (beef, pork, chicken, and egg producing hen). Worldwide salmonellosis has been reported over 1.300 million annually, in addition to three million associated deaths. Data in the US have estimated 5% of enteric *Salmonella* can be attributed to pork meat consumption (3), requiring greater control in pork food production.

*Salmonella* spp. pork meat contamination can occur at any point in the production chain. Therefore, it is necessary to control raw material for animal consumption, animal care in the farm, slaughterhouse, cutting and deboning room, processing plant, and points of sale, as well as transportation (4). In pigs the principal source of *Salmonella* contamination comes from farms where they are raised, since infection route is oral-fecal, where feces are the major source of contamination.

Infection starts with contaminated food ingestion or with direct contact with *Salmonella* spp. carriers (5). The large intestine, as well as the mesenteric ganglia, and oral cavity tissues are the most contaminated by *Salmonella*, as these organs often serve as food source for bacteria (carrier animals). Therefore, this favors microorganism dissemination in the farm and at the slaughterhouse (6).

*Salmonella* spp. in pig lymphatic mesenteric ganglia is evidence of animal exposure to the

## INTRODUCCIÓN

La infección de origen alimentario por *Salmonella* spp., es una de las causas más importantes de gastroenteritis en humanos (1). *Salmonella* puede estar presente en el intestino de aves (pollos, pavos), reptiles, tortugas, cerdos y la fuente de infección más común son los alimentos contaminados (2). El aumento en la incidencia de *Salmonella* spp., tiene un gran impacto, tanto en salud pública como en salud animal y se ha relacionado con el incremento en la diseminación de los microorganismos a través de las cadenas productivas animales (bovinos, cerdos, pollos de engorde y gallinas ponedoras). Se ha reportado, que en el mundo anualmente se presentan más de 1.300 millones de casos de salmonelosis y tres millones de muertes. Datos de EEUU han estimado que el 5% de los casos asociados a *Salmonella enterica* se atribuyen al consumo de productos de origen porcino (3), lo que exige mayor control de la producción porcícola.

La contaminación por *Salmonella* spp., en la carne de cerdo, puede producirse en cualquier etapa de la cadena productiva, por lo que es necesario controlar las materias primas para la alimentación del animal, el manejo de los animales en la granja, la planta de beneficio, la sala de desposte, la planta de procesamiento y los puntos de venta, así como el transporte (4). La fuente principal de transmisión de *Salmonella* en porcinos son las granjas de producción, debido a que la infección con este patógeno ocurre por vía oral-fecal; siendo la mayor fuente de contaminación las heces. La infección comienza con la ingestión de alimentos contaminados o con el contacto directo con animales portadores de *Salmonella* spp., (5). El intestino grueso y los ganglios mesentéricos, así como los tejidos relacionados con la cavidad bucal son los de mayor contaminación por *Salmonella* y estos órganos a menudo sirven de alojamiento para la bacteria (animales portadores); lo que favorece la diseminación del microorganismo en la granja y en la planta de beneficio (6).

pathogen, it generally is asymptomatic. The presence of the pathogen in ganglia is not an indicator of recent contamination, but of long periods of exposure, favoring microorganism dissemination (7).

Salmonellosis infection treatment for pigs utilizes amoxicillin, clavulanic acid, ampicillin, ceftiofur, ciprofloxacin, chloramphenicol, florfenicol, gentamicin, trimethoprim/sulphamethoxazole, tetracycline and macrolid antibiotics (tilmicosin). Pulecio-Santos *et al.* demonstrated 99.6% isolates presented resistance to at least one of the aforementioned antibiotics, where tetracycline (93% resistance) was the least effective. This fact is the result of excessive and uncontrolled product use. Henceforth, recommended dosages must be employed, in addition to combination of at least two families of antimicrobials to ensure pathogen elimination. The objective of this study was to determine *Salmonella spp.* prevalence in pig mesenteric ganglia from different regions in Colombia.

## MATERIALS AND METHODS

**Sample size.** Sample was performed in by stratified random sampling proportional sampling in 31 slaughterhouses in 13 Colombian departments, which generate the largest pork meat production in the country [Antioquia, Bogotá, Valle del Cauca, Risaralda, Atlántico, Caldas, Quindío, Nariño, Santander, Huila, Meta, Chocó and others (Tolima and Cundinamarca)].

Sample size was calculated by prevalence point estimate using New Sample size V 1.1 (2008). Initial sample size included 2.864.650 slaughtered pigs in 2014. Prevalence of *Salmonella spp.* infecting pig mesenteric ganglia was unknown, therefore 50% prevalence was assumed, with a 5% maximum expected difference and Error type I. Total sample number suggested by the program was 385, with 20% increase to account for sample loss by inability to maintain cold chain, loss of sample custody or sample integrity for a total of 462. Sampling was carried-out between August through December 2015 (five months). Total sample number per slaughterhouse was collected in a proportional fashion according to number of sacrificed animals per annum. Thus, samples were collected from 30 slaughterhouses for a total of 462 pigs with a 1.1% loss (5/462), based on aforementioned criteria. Final sample number for this study was 457/462 (98.9%).

**Sample collection.** Pork carcasses during slaughtering were selected, where a trained DVM removed mesenteric ganglia according to world

La presencia de *Salmonella spp.*, en los ganglios linfáticos mesentéricos en porcinos es una evidencia de la exposición del animal al patógeno y cursa por lo general de manera asintomática; por otra parte la presencia del patógeno en los ganglios no es indicador de contaminación reciente sino de largos períodos de exposición; lo que puede favorecer la diseminación del microorganismo (7).

Para el tratamiento de la salmonelosis en cerdos se utilizan principalmente antimicrobianos como, Amoxicilina, Ácido Clavulánico, Ampicilina, Ceftiofur, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Florfenicol, Gentamicina, Trimetoprim/Sulfametoxazol, Tetraciclina y Tilmicosina. Un estudio realizado por Pulecio-Santos *et al.* (8), demostró que el 99.6% de aislamientos provenientes de cerdos presentan resistencia al menos a uno de los antibióticos mencionados; donde la Tetraciclina con 93% de resistencia es el menos efectivo. Este efecto es ocasionado por el uso excesivo y descontrolado de estos productos, por lo cual se recomienda usar las dosis adecuadas y hacer cocteles de al menos dos familias de antimicrobianos para asegurar la eliminación del patógeno. El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia de *Salmonella spp.*, en ganglios mesentéricos de porcinos, provenientes de diferentes regiones de Colombia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Tamaño de muestra.** El muestreo se realizó de manera estratificada y por fijación proporcional en 31 plantas de beneficio distribuidas en los trece departamentos participantes; los cuales generan la mayor producción de carne de cerdo en Colombia [Antioquia, Bogotá, Valle del Cauca, Risaralda, Atlántico, Caldas, Quindío, Nariño, Santander, Huila, Meta, Chocó y otros (Tolima y Cundinamarca)]. El tamaño de muestra fue calculado mediante la estimación puntual de la prevalencia con el programa estadístico Nuevo Tamaño de Muestra 1.1 (2008). La población inicial fue de 2.864.650 cerdos sacrificados en el 2014, la prevalencia de *Salmonella spp.*, esperada en ganglios mesentéricos era desconocida en el país, por lo que se asumió una prevalencia del 50%, tanto la diferencia máxima esperada y el error tipo I fue del 5%. El número de muestras total arrojado por el programa fue 385, a lo que se incrementó 20% de muestras (estimado de pérdida de muestras, por pérdida de cadena de frío, pérdida de custodia o de la integridad de la muestra para un total de 462), el muestreo se realizó en un período de cinco meses, comprendido entre agosto y diciembre del año 2015. El número de muestras (ganglios

organization for animal health protocol (OIE, 2004). Ganglia were shipped to the laboratory under cold chain conditions for their processing (4-6°C).

**Sample analysis.** Mesenteric ganglia were cleaned and excess adipose tissue was removed under sterile conditions and weighted. According to sample weight, buffered peptone water was added in a 1:9 ratio (sample:water). Sample was homogenized for 10 seconds in a Stomacher (Smasher LAES Laboratoire), and incubated at 35°C for 24 h.

From each sample 20 µl were set aside, where DNA was isolated following 3M™ protocol. *Salmonella* genus was determined by isothermic PCR (3M™ Molecular Detection Assay 2–*Salmonella*). Positive *Salmonella* spp. samples were re-isolated and purified in Hecktoen agar, and confirmed by MALDI-TOF MS (Bruker, Daltonics Inc, Billerica, MA). Last, they were stored in brain heart infusion (BHI) supplemented with 20% (w/v) glycerol and kept at -20°C.

Based on the number of positive *Salmonella* spp. sample prevalence was calculated [Equation 1].

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{No.muestras positivas}}{\text{No.muestras totales}} \times 100 [1]$$

**Antimicrobial susceptibility.** Antimicrobial resistance was determined for positive *Salmonella* spp. isolates utilizing Panel B1016-180 (Beckman Coulter, Negative Combo 72, NC72), based on specifications by the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S27 (9). Whonet 2016 was used for data analysis.

**Isolate serotyping.** Isolates presenting multiple resistances to two or more first or second choice antimicrobials for human salmonellosis treatments were serotyped employing Kauffman-White methodology in the Colombian National Institute of Health (Instituto Nacional de Salud INS) Microbiology laboratory.

## RESULTS

To detect *Salmonella* spp. by molecular screening a total of 457 samples were processed (100%), 129 samples were positive obtaining 28.2% prevalence. However, only 110 samples were recuperated from culture media. Figure 1 illustrates prevalence for each department where samples were collected. The total number of slaughterhouses was 31.

mesentéricos) por planta se tomó de forma proporcional al número de animales sacrificados por año. Por lo anterior las muestras fueron obtenidas a partir de 30 plantas de beneficio para un total de 462 cerdos muestreados con una pérdida de 5/462 (1.1%) de muestras por los conceptos anteriormente planteados. El número final de muestras investigadas en el estudio fue 457/462 (98.9%).

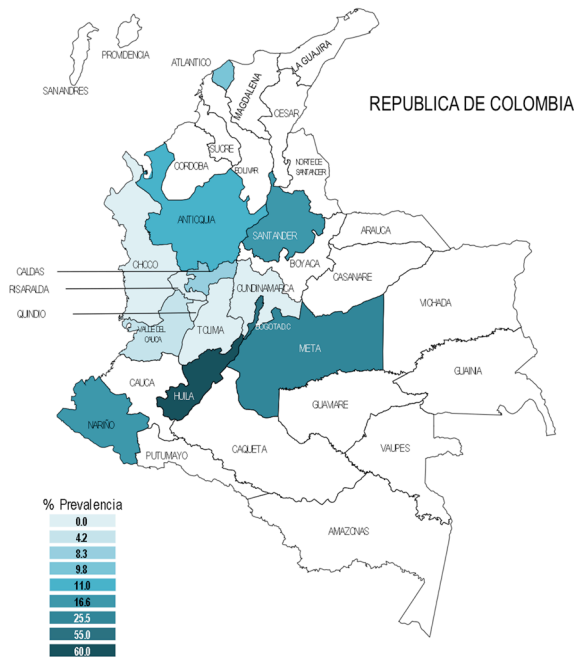
**Obtención de muestras.** Se seleccionaron canales de porcino que estuvieran en proceso de beneficio y un médico veterinario capacitado realizó el retiro los ganglios mesentéricos, de acuerdo con el protocolo descrito en el manual de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2004), los ganglios se enviaron al laboratorio en condiciones de refrigeración (4-6°C) para su procesamiento.

**Análisis de muestras.** Los ganglios mesentéricos fueron limpiados (retiro de exceso de grasa) en condiciones de esterilidad, posteriormente fueron pesados, de acuerdo al peso obtenido se adicionó el volumen de agua peptonada tamponada requerida para obtener una relación muestra:agua peptonada (1:9), se homogenizó la mezcla en Stomacher (Smasher LAES Laboratoire), durante 10 segundos, se incubó por 24 horas a 35°C. Posteriormente se extrajo 20µl de cada muestra y se pasaron a tubos de lisis celular para extraer el DNA, siguiendo el protocolo de la casa comercial 3M™ así como la identificación del género *Salmonella* por PCR isotérmica (3M™ Molecular Detection Assay 2–*Salmonella*). Los aislamientos positivos para *Salmonella* spp., fueron re-aislados y purificados en agar Hecktoen y confirmados por el sistema MALDI-TOF MS (Bruker, Daltonics Inc, Billerica, MA). Finalmente, fueron conservados en Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI), suplementado con 20% (p/v) de glicerol a -20°C.

Basados en la cantidad de muestras positivas para *Salmonella* spp., se determinó la prevalencia [Ecuación 1].

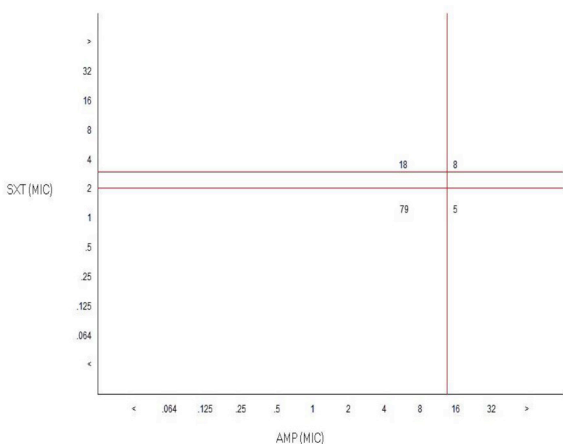
$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{No.muestras positivas}}{\text{No.muestras totales}} \times 100 [1]$$

**Susceptibilidad antimicrobiana.** A los aislamientos positivos para *Salmonella* spp., se les determinó la resistencia antimicrobiana, usando el Panel B1016-180 (Beckman Coulter, Negative Combo 72, NC72), según lo recomendado por el Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S27 (9). Para el análisis de datos se empleó el programa Whonet 2016.



**Figure 1.** *Salmonella spp.* prevalence in pig mesenteric ganglia.

**Antimicrobial susceptibility.** Antimicrobial susceptibility test was performed in re-isolated and purified isolates (110) out of 129 total (85.3%). Antimicrobial susceptibility patterns against commonly used antibiotic against primary or secondary salmonellosis in humans are depicted in table 1. *Salmonella spp.* isolate distribution as a function of Trimethoprim/Sulfamethoxazol (SXT) and ampicillin (AMP) is detailed in figure 2. Distribution shows eight isolates were resistant to SXT, with a  $> 3 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Moreover, they presented intermediate resistance to AMP with MIC  $>8$  and



**Figure 2.** *Salmonella spp.* isolate distribution as a function of antimicrobial susceptibility to trimethoprim/sulfamethoxazol (SXT) vs., ampicillin (AMP). First choice antibiotics for treatment of human salmonellosis.

**Serotipificación de los aislamientos.** Aquellos aislamientos que presentaron resistencia múltiple a 2 o más antimicrobianos de primera o segunda elección para el tratamiento de la salmonellosis humana, fueron serotipificados empleando la metodología Kauffman-White, en el laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud de Colombia (INS).

**RESULTADOS**

Se procesaron 457 muestras (100%), mediante el método molecular se detectó la presencia de *Salmonella spp.*, en 129 muestra, para una prevalencia del 28.2%; no obstante, en el momento de recuperación a partir de los medios de cultivo se obtuvieron 110 aislamientos. En la figura 1 se presenta la prevalencia para cada una de los departamentos muestreados. El número de plantas de beneficio incluidas en el estudio fue de 31.

**Susceptibilidad antimicrobiana.** La prueba de susceptibilidad antimicrobiana se realizó a 110/129 (85.3%) aislamientos que se lograron re-aislar y purificar.

En la tabla 1, se pueden observar los patrones de susceptibilidad antimicrobiana frente antibióticos que son comúnmente empleados como tratamiento de elección primario o secundario contra salmonellosis en humanos.

En la figura 2 se aprecia la distribución de los aislamientos de *Salmonella spp.*, en función de la resistencia a Trimetoprim/Sulfametoxazol (SXT) y Ampicilina (AMP). La distribución muestra que 8 aislamientos fueron resistentes a SXT con una MIC  $> 3 \mu\text{g mL}^{-1}$  y además, presentaron resistencia intermedia a AMP con una MIC  $>8$  y  $<16 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Las resistencias intermedias fueron consideradas como resistentes.

Sin embargo; en la figura 3 se observa que ninguno de los aislamientos presentó multiresistencia a los antibióticos, Ciprofloxacina (CIP) y Cefotaxime (CTX).

**Serotipificación.** Para la serotipificación se seleccionaron los 8 aislamientos resistentes a Trimetoprim/Sulfametoxazol (SXT) y Ampicilina (AMP), los cuales correspondieron a cinco serotipos de *Salmonella*, como se observa en la tabla 2.

**Table 1.** Antibiotic antimicrobial susceptibility pattern in humans

Antibiotic	Cutt-off point	R (%)	S (%)	MIC50 µg mL <sup>-1</sup>	MIC90 µg mL <sup>-1</sup>
Ampicillin (AMP)	S≤8; R≥16	11.8	88.28	8	16
Cefotaxime (CTX)	S≤1; R≥32	2.7	97.3	1	1
Ciprofloxacin (CIP)	S≤8; R≥16	1.8	98.2	0.064	0.064
Trimethoprim/Sulfamethoxazole (SXT)	S≤2; R≥3	23.6	76.4	2	3

<16 µg mL<sup>-1</sup>. Never the less, intermediate resistance was considered resistant. Last, none of the isolates presented antibiotic multiresistance to Ciprofloxacin (CIP) and Cefotaxime (CTX) (Figure 3).

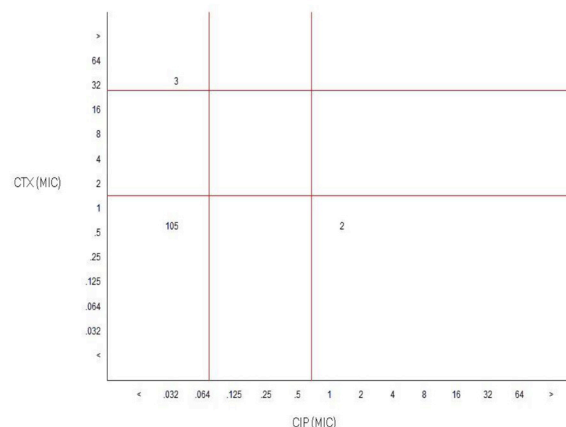
**Serotyping.** Eight Trimethoprim/Sulfamethoxazole (SXT) and ampicillin (AMP) resistant isolates were selected for serotype, corresponding to five *Salmonella* serotypes, as can be observed in table 2.

**Table 2.** SXT and AMP resistant isolate serotypes

Isolate Code/(%)	Serotype
299 (12.5%)	S.1,4,12 : i : --
306 and 1948 (25%)	S. Agama
424 (12.5%)	S. London
908 y 1955 (25%)	S. Typhimurium
2419 (12.5%)	S. Agona
2433 (12.5%)	S. Haifa

## DISCUSSION

*Salmonella* spp., general prevalence in pig mesenteric ganglia from 31 participating slaughterhouses in 13 departments was 28.2% (129/457). These samples were representative of pig slaughtering for the whole country, since they render more than 90% of legal slaughtering. Data in this study is similar to those reported by the European Food Safety Authority (EFSA, 2008) for Spain, Greece, Portugal, and Luxemburg. These countries reported prevalence between 25 and 30% (10). In France and Portugal studies performed by Robinault et al (11) reported 18.4% and 23.7% prevalence, respectively. For other European countries, such as Finland, Norway, Austria, Estonia, Slovakia and Poland, prevalence doesn't exceed 5% (10). When comparing the results obtained from this study and data



**Figure 3.** *Salmonella* spp. isolate distribution as a function of antimicrobial susceptibility to ciprofloxacin (CIP) vs. cefotaxime (CTX). Second choice antibiotics for treatment of human salmonellosis in children < 14 years old.

## DISCUSSION

La prevalencia general de *Salmonella* spp., en gánglios mesentéricos provenientes de cerdos en 31 plantas de beneficio, de los 13 departamentos participantes fue de 28.2% (129/457); estas muestras son representativas del proceso de beneficio de cerdos de todo el país al concentrar más del 90% del sacrificio legal que se realiza. Los datos obtenidos en este estudio son similares a los reportados por la Agencia Europea de Inocuidad Alimentaria, EFSA, (2008) para países como España, Grecia, Portugal y Luxemburgo los cuales presentan prevalencias entre el 25% al 30% (10). En Francia y Portugal estudios realizados por Robinault et al (11), reportaron una prevalencia de 18.4% y 23.7% respectivamente, mientras que países como Finlandia, Noruega, Austria, Estonia, Eslovaquia y Polonia reportan prevalencias que no superan el 5% (10). Al comparar los resultados de este estudio con los obtenidos en otros países se observa que los últimos son inferiores; lo que podría deberse a los mayores estándares de bioseguridad para la prevención de la contaminación por *Salmonella* spp., desde las granjas, así como la implementación obligatoria

collected from other countries, prevalence was lower for the later. This could be the result of more stringent biosecurity standards to prevent *Salmonella* spp., contamination starting in the farm where animals are raised. In addition, in Europe good agriculture practices (GAP) are obligatory for pork meat production. In contrast, in Colombia GAP are of voluntary adoption. Never the less, it is required to have authorization from the Colombian Agriculture Institute (ICA) for livestock exploitation. Moreover, prevalence in Colombia is similar to that of Mexico (26.87%), as reported by Talavera Rojas (12).

As illustrated in figure 1, Huila presented the highest prevalence in comparison with the rest of the departments. However, this data is apparent, since only five samples out of 457 were collected (1.1%), since animals slaughtered in this department is relatively low. Data from the Colombian pork producing council (Asociación Colombiana de Porcicultores) revealed for Huila between the months of January and June (2013 and 2014) the total number of pig's heads ranged between 12.169 and 12.695. Thus, for a term representing only 0.9% sacrifice of the total carried out in Colombia. Moreover, most slaughterhouses in Huila are class IV, where sacrifice productivity is approximately 40 heads/8 hour work shift. This is far less productive to those located in Bogotá, which are class I with productivity greater than 400 heads/8 hour work shift. Additionally, the only slaughterhouse in Huila with greater productivity is classified as class II, with  $\geq 240$  heads/8 hour work shift.

Following the second department with prevalence was Bogotá with 56.7%. According to the Colombian pork producing council this percentage obeys the number of pigs entering the city. Pigs don't only come from nearby municipalities and departments, but also from distant departments, such as Valle del Cauca and Santander. Therefore, the stress provoked from transportation generates greater pathogen prevalence. When the bacteria are excreted in the feces cross contamination is favored among contaminated and non-contaminated animals (13).

Valle del Cauca was the third department with the highest slaughtered pigs in the country, exceeded only by Antioquia and Bogotá, D.C. This increase is due to reduced pig sacrifices in Tolima, Huila and Cauca, since they are less competitive in terms of quality and price (14).

Studies reported by Díaz et al (2011) demonstrated flaws in biosafety norm compliance, thus, favoring pathogenic agent entry, including *Salmonella* in Colombian intensive production pig farms with

de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), en las explotaciones porcinas en Europa; mientras que en Colombia las BPA son de adopción voluntaria; sin embargo, es obligatorio tener autorización del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) para la explotación pecuaria. Por otra parte, la prevalencia en Colombia es similar a la reportada en México (26.87%) por Talavera Rojas (12).

Como se observa en la figura 1, el Huila presentó mayor prevalencia en relación al resto de los departamentos; sin embargo, este dato es aparente, pues sólo se tomaron 5/457 (1.1%) muestras, debido a que el número de animales beneficiados en este departamento es relativamente bajo; datos de la Asociación Colombiana de Porcicultores, señalan que el beneficio entre Enero-Junio (2013 y 2014) en el Huila osciló entre 12.169 y 12.695 cabezas de ganado porcino; constituyendo sólo el 0.9% del beneficio semestral en todo el país. Por otra parte, la mayoría de las plantas de beneficio del departamento son de clase IV, por lo que su productividad de sacrificio aproximada es 40 porcinos/ turno de 8 horas; lo que está muy alejado de las plantas de clase I, como las de Bogotá, cuya productividad es  $\geq 400$  porcinos/ turno de 8 horas. Adicionalmente, la única planta de beneficio en el departamento con mayor productividad es de clase II, cuya productividad es  $\geq 240$  porcinos/ turnos de 8 horas.

El segundo departamento en prevalencia fue Bogotá D.C con 56.7%; situación que según la Asociación Colombiana de Porcicultores, obedece al flujo de porcinos que ingresa a esta ciudad, los cuales no sólo provienen de municipios y departamentos cercanos, sino también de departamentos lejanos como el Valle del Cauca y Santander. En este sentido, el estrés generado durante el transporte tiene un efecto en el incremento de la prevalencia del patógeno, al excretarlos en las heces se favorece la contaminación cruzada entre cerdos colonizados y sin colonizar (13).

El Valle del Cauca fue el tercer departamento con mayor número de beneficios de porcinos en el país, superado sólo por Antioquia y Bogotá D.C., este incremento se debe a la reducción de porcinos beneficiados en plantas de Tolima, Huila y Cauca; ya que son menos competitivos en calidad y precio (14). Estudios reportados por Díaz et al, (2011) en granjas porcícolas colombianas de producción intensiva con más de 200 hembras mostraron la existencia de fallas en la aplicación de las normas de bioseguridad, lo cual favorece el ingreso de agentes patógenos (15), incluido *Salmonella*, aspecto que puede influir en los datos obtenidos en esta región.

more than 200 sows, (15). This aspect could have influenced data obtained for this region.

The main pork meat producer in Colombia is Antioquia. The number of sacrificed pigs between January of 2013 and July of 2014 ranged between 684.746 and 700.583 heads. Double of what was reported for Bogotá, representing 47.8% all of slaughtered pigs in a term for the whole country. Antioquia is one of the most technified regions in the country, thus accounting for this percentage. Moreover, *Salmonella* spp. prevalence for this region was low (11%), in comparison with the mean for the country. Zapata et al (16) in their study reported 31.25% prevalence. A high number of samples for this study were collected from this region 42% (191/457). This is a department, where it is frequent to find productive stages handled at different sites (15). This can help control disease flow, when transporting animals from one farm to another.

In Colombia, as for many other Latin American countries, the grade of technology in swine farms varies, as well as the means of transportation. These factors contribute to an increase in *Salmonella* dissemination, as has been reported by various authors (13,17). Another important factor that was not taken into account in this study is the distances travelled. As was previously mentioned, there are animals that are sacrificed in other departments. It can take up to 12 hours before they reach the slaughterhouse. Moreover, roads can be closed for different reasons. These transport incidents can generate stress for the animal, affecting the immune system and increasing the risk of contamination (18). Additionally, stress during transportation has an effect of pathogen prevalence, which could generate crossed contamination among colonized and non-colonized pigs (18).

As observed from table 1, the highest resistance obtained was against SXT with 23.6%, followed by AMP with 11.8%, CTX 2.7% and CIP 1.8%. These results are far lower compared with Bermúdez, et al (20). They evaluated susceptibility of 155 *Salmonella* spp. strains isolated from swine slaughtering. They reported 41.94% resistance to ampicillin and 8.39% for ciprofloxacin. In addition, Bermúdez et al (20) and Pineda et al (21) reported a Trimethoprim/Sulfamethoxazole resistance of 96.87%. Decreased resistance in the present work could be due to greater quality control and optimization for all processes involved in the past years, including good manufacturing practices in veterinary medications.

El principal departamento porcícola de Colombia es Antioquia, debido a que el número de porcinos beneficiados entre 2013 y 2014 en los meses de Enero – Julio osciló entre 684.746 – 700.583 cabezas, el doble de la cantidad reportada para Bogotá, equivalente al 47.8% del beneficio semestral en todo el país. Antioquia cuenta con la mayor cantidad de beneficios porcinos; siendo una de las zonas más tecnificadas del país. Como se observa en la figura 1 la prevalencia de *Salmonella* spp., en Antioquia fue baja (11%) en comparación con la media del país y en comparación con los resultados obtenidos por Zapata et al (16); estudio en el que obtuvieron una prevalencia del 31.25%. En Antioquia se tomó el 42% (191/457) de las muestras incluidas en el estudio. Este es un departamento donde es frecuente encontrar empresas que manejan las etapas productivas en diferentes sitios (15), lo que puede facilitar el control del flujo de enfermedades al transportar animales de una granja a otra.

En Colombia, como en muchos países de América Latina, el grado de tecnificación de las granjas porcícolas, así como el transporte varían, estos factores contribuyen a que aumente la diseminación de *Salmonella*, aspecto que ha sido reportado por varios autores (13, 17), otro factor importante que no fue estudiado en este trabajo son las distancias recorridas (pues como se mencionó previamente hay animales que se sacrifican en otros departamentos), las cuales pueden llegar hacer de hasta 12 horas antes del ingreso a las plantas, también se pueden presentar cierre de vías por diversas razones. Estos incidentes de trasporte generan estrés en el animal, afectando el sistema inmune e incrementando el riesgo de contaminación (18). Adicionalmente, el estrés durante el transporte tiene un efecto sobre el incremento de la prevalencia del patógeno, lo que podría generar contaminación cruzada entre cerdos colonizados y no colonizados (19).

Como se puede observar en la tabla 1, la mayor resistencia obtenida fue a SXT con 23.6%, seguido de AMP con 11.8%, CTX 2.7% y CIP 1.8%; resultados que son mucho menores respecto al estudio realizado por Bermúdez, et al (20) quienes evaluaron la susceptibilidad de 155 cepas de *Salmonella* spp., aisladas del beneficio porcino, en el cual reportaron resistencias de 41.94% a Ampicilina y 8.39% para Ciprofloxacin. Al comparar los resultados obtenidos por Bermúdez et al (20) y Pineda, et al (21), obtuvieron 96.87% de resistencia a Trimetoprim/Sulfametoxazol. La disminución en las resistencias frente a estos antibióticos en el presente trabajo puede deberse a que



A previous study by Pontificia Universidad Javeriana Environmental biotechnology research group (Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial GBAI), related to *Salmonella* isolates from pork meat industry (slaughterhouse, cutting and deboning room, and points of sale), performed in the same regions, as the present study reported the following resistances CTX 1.6%, a AMP 6.2%, CIP 3.1% and SXT for 14.1%. When comparing this data with results from this study it is evidenced antibiotic resistance profile increased, with the exception of CIP, which presented a lower resistance. Even so, an important prevalence was demonstrated, in addition to confirmation of foods resistant to *Salmonella* spp. circulating among pigs.

This study confirmed eight isolates resistant to SXT and AMP (Figure 2); these drugs are first election against human salmonellosis. Therefore, finding resistance to both implies a serious health problem, due to low efficacy in treatment for possible infected human patients (8). It is worth highlighting none were resistant to a CIP and CTX, antibiotics used in children.

According to Pulecio-Santos et al (8) AMP, CIP, SXT are among the most employed antibiotics used for swine salmonellosis. Resistance found in this study demonstrated antibiotic treatment in pigs can increase isolated circulating *Salmonella*, these can cause salmonellosis in humans, increasing a risk in treatment failure. Another factor that can increase resistance is the fact that in 70% of the farms antibiotic supply is performed through drinking water, favoring constant exposure of antibiotics to circulating microorganisms (15).

Gutiérrez et al (23) studied *Salmonella* spp. strain susceptibility in Cuba, where they obtained 5% resistance to Ceftazidime, and no resistance to Ciprofloxacin or Trimethoprim/Sulfamethoxazole. These results are lower than the ones obtained in the present study. This low prevalence could be accounted by low pig circulation from other countries, as well as controlled use of antibiotics for pig production in Cuba (8).

In contrast, in Rumania 50% resistance to ampicillin, 34.6% to Trimethoprim/Sulfamethoxazole, 3.8% to Ciprofloxacin and none to Ceftazidime was observed. Rumanian authors described deficiency in antibiotic handling and treatment when raising swine. In addition, with time resistance to antibiotics could worsen (24).

en los últimos años se ha intentado optimizar y aumentar el control de calidad en todas las etapas, incluidas las Buenas Prácticas en el Uso de Medicamentos Veterinarios.

Un estudio previo (datos no publicados) del Grupo de Biotecnología Ambiental e Industrial (GBAI) de la Pontificia Universidad Javeriana, relacionado con aislamientos de *Salmonella* provenientes de la industria porcina colombiana (planta de beneficio, desposte y puntos de venta), realizado en las mismas zonas de este estudio, encontró resistencias del 1.6% para CTX, 6.2% a AMP, 3.1% a CIP y 14.1% para SXT; cuando se comparan estos datos con los obtenidos (Tabla 1), se evidencia que el perfil de resistencia a los antibióticos evaluados se incrementó, a excepción de CIP que presentó una resistencia mucho menor que la obtenida en la investigación previa; aun así, los resultados muestran una prevalencia importante y confirman la existencia de aislamientos resistentes de *Salmonella* spp., circulando en porcinos.

En este estudio se encontraron 8 aislamientos resistentes al SXT y AMP (Figura 2); antibióticos que son usados como tratamientos de primera elección contra la salmonellosis humana, por lo cual encontrar resistencia frente a los dos significa un grave problema de salud pública, debido a la ineficacia en posibles tratamientos de pacientes humanos infectados (8). Cabe destacar que ninguno de los aislamientos estudiados fue resistente a CIP y CTX, antibióticos usados para terapia en menores de edad (22).

Según Pulecio-Santos et al (8), entre los antibióticos más usados para el tratamiento de la salmonellosis porcina se encuentran, AMP, CIP, SXT, entre otros. La resistencia encontrada en este estudio, demuestra que el tratamiento con antibióticos en cerdos puede incrementar la resistencia de los aislamientos de *Salmonella* circulantes, las cuales pueden causar salmonellosis en humanos incrementando el riesgo de falla en el tratamiento. Otro factor que puede incrementar la resistencia es el hecho de que el suministro de antibióticos se hace a través del agua de bebida en el 70% las granjas, favoreciendo la exposición constante de los microorganismos circulantes a estas sustancias (15).

Gutiérrez et al (23) estudiaron la susceptibilidad de cepas de *Salmonella* spp., en Cuba donde obtuvieron resistencia de 5% a Ceftazidime, 0% a Ciprofloxacin y 0% a Trimethoprim/Sulfamethoxazole, resultados que son inferiores a los obtenidos en el presente estudio. Esta prevalencia tan baja se podría explicar por la escasa circulación de cerdos de otros países, así como por el uso controlado de los antibióticos en la producción porcina en Cuba (8).

Among the eight serotyped *Salmonella* spp. isolates two were *S. Typhimurium*, two *S. Agama*, one *S. London*, one *S. Agona*, one *S. Haifa* and one *S.1,4,12 : i : --* (Table 2). Given the number of identified serotypes, it was not possible to detect a predominant serotype, even so according to the world health organization (WHO) highest swine serotype incidence are *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium*. In Colombia various studies have been developed to detect predominant serotypes, such as como *S. Typhimurium* (47% and 70%), *S. Derby* (7% and 14%), *S. Javiana* (14%), *S. Agona* (6% and 10%) and *S. Agama* (3%). However, these reports are undergraduate theses that have not been published in scientific journals.

The present study found *S. London* and *S. Haifa* serotypes, which are rather infrequent serotypes in pigs (25). A study performed in Uganda reported *S. Newport*, *S. Guildford*, *S. Coleypark*, *S. Damman* as frequent pig serotypes (26), previously described in humans. Osman et al (27), evidenced *S. Haifa* in duck embryos, this serotype has also been isolated from bovine feces (28), and humans (26), suggesting adaptation to different animal species. Additionally, *S. London* an unusual serotype was also identified. Cui et al (29) determined the hosts for this serotype are fowl (hens and chickens). Probably this finding is associated with farm technification, where this serotype was isolated; this inference is also valid for *S. Haifa*. Another possible aspect to be considered is proximity of bovine farms.

One isolate was typified as (*S.1,4,12:i:--*), since it was not possible to determine the mobile phase. However, it is known it belongs to *S. Typhimurium* variant, usually cited for its antigenic formula. Correia-Gomes, et al (30), reported the presence of a multiresistant *S. Typhimurium* (*S.1,4,[5]12:i:--*), antigenic formula similar to that reported in the US in pig mesenteric lymphatic ganglia.

Last, *Salmonella* detection in lymphatic ganglia is pertinent, since this sample allows to detect if the source is from the pig or environmental. Additionally, it is indicated when strain origin source requires to be determined starting from the farm (31). Moreover, more studies recommend molecular techniques, for this study the 3M™ Molecular Detection Assay 2–*Salmonella* was of great use, since no inhibitions nor false negative were present (data not shown) (32).

En comparación con Rumania se encontraron resistencias de 50% a Ampicilina, 34.6% a Trimetoprim/Sulfametaxazol, 3.8% a Ciprofloxacina y 0% a Ceftazidima, según los autores en Rumania también hay deficiencias en el manejo y tratamiento antimicrobianos en la cría de porcinos y con el paso del tiempo la resistencia a antibióticos podría ser cada vez mayor (24).

Entre los 8 aislamientos de *Salmonella* spp., serotipificados se encontraron dos cepas de *S. Typhimurium*, dos *S. Agama*, una *S. London*, una *S. Agona*, una de *S. Haifa* y una *S.1,4,12 : i : --* (Tabla 2). Debido al número de serotipos identificados, no se pudo detectar un serotipo predominante; aun así, según la Organización Mundial de la Salud (OMS) los serotipos con mayor incidencia en porcinos son: *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*. En Colombia se han realizado varios estudios encaminados a detectar serotipos predominantes como *S. Typhimurium* (47% y 70%), *S. Derby* (7% y 14%), *S. Javiana* (14%), *S. Agona* (6% y 10%) y *S. Agama* (3%); sin embargo, los reportes de estos datos permanecen en trabajos de grado de pregrado y no se encuentran visibles en artículos científicos.

En el presente estudio se reportan los serotipos *S. London* y *S. Haifa* que son poco frecuentes en el cerdo (25). Un estudio realizado en Uganda demostró que los serotipos predominantes en cerdo fueron *S. Newport*, *S. Guildford*, *S. Coleypark*, *S. Damman* (26); serotipos que han sido previamente descritos en humanos. Osman et al (27), evidenciaron la presencia de *S. Haifa* en embriones y crías de pato, este serotipo también se ha aislado de heces de bovino (28), en humanos (26), lo que sugiere la adaptación a diferentes especies animales. Por otra parte, en la serotipificación también se encontró *S. London*, caso inusual ya que autores como Cui et al (29), determinaron que este serotipo es un huésped usual en aves (gallinas y pollos). Probablemente este hallazgo esté relacionado con problemas en la tecnificación de las granjas donde fueron aislados; argumento que también es válido para *S. Haifa*, otro aspecto a considerar es la posible cercanía a explotaciones bovinas.

Uno de los aislamientos fue tipificado como (*S.1,4,12:i:--*), debido a que por serología no se logró determinar la fase móvil; sin embargo, es conocido que ésta es una variante de *S. Typhimurium* que usualmente es citada por su fórmula antigénica. Correia-Gomes, et al (30), reportaron la presencia de un aislamiento multiresistente de *S. Typhimurium*, (*S.1,4,[5]12:i:--*), (fórmula antigénica similar a los reportados en Estados Unidos) en ganglios linfáticos (mesentéricos) del porcino.

In conclusion, *Salmonella* spp. prevalence in mesenteric pig ganglia was 28.2%, where Huila was the region with highest prevalence (60%). In contrast, regions with no prevalence were Risaralda, Quindío, Chocó, and other regions. A 23.6% resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole was calculated, 11.8% for ampicillin, 2.7% to cefotaxime, and 1.8% to ciproflaxin. It is important to consider, when comparing these results to other studies, factors such as methods employed for antimicrobial susceptibility detection and changes in cut-off points, decisively influence, affecting resistance tendency analysis among countries. Serotypes found in pig mesenteric ganglia were *S. Typhimurium*, *S. London*, *S. Agona*, *S. Agama*, *S. Haifa* and (*S.1,4,12:i:--*). This last one exhibited multiple antimicrobial resistance (>2 antimicrobials).

#### **Conflict of Interest**

The authors declare they have no conflict of interests in regards to the work herein presented.

#### **Acknowledgements**

To the Ministry of Agriculture and Rural development (MADR) and National Pig Industry Fund for financing the project "Pathogen bacteria surveillance in pig slaughterhouses, cutting and deboning rooms and points of sale" through the special agreement of technical and scientific cooperation between the MADR and PorkColombia-FNP (Convention No. 20150360, PUJ PP-ID: 00006737, PY-ID: 00006865). To the Colombian National Institute of Health of (INS) for training in the Kauffman-White serotyping method. The authors thank María Lucía Gutierrez Ph.D. for English edition.

Por último, la detección de *Salmonella* en ganglios linfáticos es pertinente, pues ésta muestra permite detectar si la fuente de origen es el cerdo y no una fuente ambiental, adicionalmente es indicada cuando se quiere determinar el origen de la cepa desde la granja (31). Por otra parte, cada vez son más los estudios que recomiendan el uso de técnicas moleculares, en este estudio resultó de gran utilidad el uso del sistema 3M™ Molecular Detection Assay 2-Salmonella; ya que no se presentaron inhibiciones ni resultados falsos negativos (datos no mostrados), (32).

En conclusión, la prevalencia de *Salmonella* spp., en gánglios mesentéricos del porcino fue de 28.2%; siendo Huila la región con más alta prevalencia (60%) y Risaralda, Quindío, Chocó y otros, las regiones con 0% de prevalencia. Se encontró una resistencia antimicrobiana al Trimetoprim/Sulfametoxazol de 23.6%, Ampicilina 11.8%; Cefotaxime 2.7% y Ciproflaxina 1.8%. Es importante considerar que, al comparar los resultados del presente trabajo con otros realizados, factores como el método empleado para la detección de la susceptibilidad antimicrobiana y los cambios en los puntos de corte influyen decisivamente, lo que afecta el análisis de las tendencias de resistencia entre países. Los serotipos encontrados en los ganglios mesentéricos fueron *S. Typhimurium*, *S. London*, *S. Agona*, *S. Agama*, *S. Haifa* y (*S.1,4,12:i:--*); este último con resistencia antimicrobiana múltiple (>2 antimicrobianos).

#### **Conflictos de interés**

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés en relación con el trabajo que se presenta.

#### **Agradecimientos**

Al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) y al Fondo Nacional de la Porcicultura (FNP), por la financiación del proyecto "Monitoreo de bacterias patógenas en plantas de sacrificio, desposte y expendio de la cadena porcina" a través del convenio especial de cooperación técnica y científica entre el MADR y PorkColombia-FNP (Convenio N° 20150360, PUJ PP-ID: 00006737, PY-ID: 00006865). Al Instituto Nacional de Salud de Colombia (INS), por la capacitación en el método de serotipificación Kauffman-White. Los autores también agradecen a María Lucía Gutierrez Ph.D., por la edición de Inglés.

## REFERENCIAS

1. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson M-A, Roy SL et al. Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens. *Emerg Infect Dis* 2011; 17(1):7-15.
2. Binter C, Straver JM, Häggblom P, Bruggeman G, Lindqvist PA, Zentek J et al. Transmission and control of *Salmonella* in the pig feed chain: a conceptual model. *Int J Food Microbiol* 2011; 145(S1):S7-17.
3. Davies PR. Intensive Swine Production and Pork Safety. 2011; 8(2):189-201.
4. Arguello H, Álvarez-Ordoñez A, Carbajal A, Rubio P, Prieto M. Role of slaughtering in *Salmonella* spreading and control in pork production. *J Food Prot* 2013; 76(5):899-911.
5. Rondón-Barragán IS, Rodríguez GA, Marín M GA. Determinación de la seroprevalencia de *Salmonella* spp. en granjas porcinas del departamento del Tolima. *Orinoquia* 2014; 18(1):60-67.
6. Nollet N, Maes D, Duchateau L, Hautekiet V, Houf K, Van Hoof J et al. Discrepancies between the isolation of *Salmonella* from mesenteric lymph nodes and the results of serological screening in slaughter pigs. *Vet Res* 2005; 36:545-555.
7. Bahnson PB, Kim J-Y, Weigel RM, Miller GY, Troutt HF. Associations between on-farm and slaughter plant detection of *Salmonella* in market-weight pigs. *J Food Prot* 2005; 68(2):246-250.
8. Pulecio-Santos S, Bermúdez-Duarte P, Suárez-Alfonso MC. Susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de *Salmonella enterica* obtenidos del pre-beneficio y de porcinos en Colombia. *Rev Salud Public* 2015; 17(1):106-119.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (M100-S27). 27th edition. CLSI: USA; 2016.
10. European Food Safety Authority (EFSA). Report of the task force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs, in the EU, 2006-2007. Part A: *Salmonella* prevalence estimates. *The EFSA J* 2008; 136:1-11.
11. Robinault C, Houdayer C, Rouxel S, Labbé A, Tircot A, Denis M et al. Estimation de la prévalence de l'infection par *Salmonella* spp des porcs charcutiers français à l'abattoir. 2008; 40:49-50.
12. Talavera Rojas M. Análisis epidemiológico molecular de *Salmonella* spp. y su relación con la resistencia antibiótica en cerdos de abasto en rastrtos del Valle de Toluca, México. [Ph.D. Thesis] Colima: Universidad de Colima; 2004.
13. De Busser EV, Maes D, Houf K, Dewulf J, Imberechts H, Bertrand S et al. Detection and characterization of *Salmonella* in lairage, on pig carcasses and intestines in five slaughterhouses. *Int J Food Microbiol* 2011; 145(1):279-286.
14. Asociación Colombiana de Porcicultores, Fondo Nacional de la Porcicultura. Informe de los proyectos de inversión desarrollados durante el primer semestre del 2014. 2014: 341p.
15. Díaz CA, Rodríguez MN, Vera VJ, Ramírez G, Casas GA, Mogollón JD. Characterization of pig farms in the main swine producing regions of Colombia. *Rev Col Cienc Pec* 2011; 24:131-144.
16. Zapata JF, Vergara LA, Cuervo CM. Detección de bacterias del género *Salmonella* sp. en matadero de cerdos de un municipio de Antioquia. *Rev Facult Cienc Foren Sal* 2012; 8:73-77.
17. Duggan SJ, Mannion C, Prendergast DM, Leonard N, Fanning S, Gonzales-Barron U et al. Tracking the *Salmonella* status of pigs and pork from lairage through the slaughter process in the Republic of Ireland. *J Food Prot* 2010; 73(2):2148-2160.
18. Mulder RWA. Impact of transport and related stresses on the incidence and extent of human pathogens in pigment and poultry *J Food Saf* 1995; 15(2):239-246.
19. Baer AA, Miller MJ, Dilger AC. Pathogens of interest to the pork industry: A review of research on interventions to assure food safety. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2013; 12:183-217.

20. Bermúdez D PM, Rincón G SM, Suárez A MC. Evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. aisladas del beneficio porcino en Colombia. Rev Fac Nac Salud Pública 2014; 32(1):88-94.
21. Pineda Y, de Aponte F, Santander J. Aislamiento de *Salmonella* sp. de origen porcino y su susceptibilidad in vitro a los antimicrobianos. Rev Vet Trop 2001; 26(1):63-76.
22. Ibarra Gómez F, Bascopé Maida SC, Yerko BA, Bejarano Forqueras HA, Bustamante Butrón RC, Cadima Terrazas MA et al. Sensibilidad y resistencia de las salmonelas a los antimicrobianos en la ciudad de Cochabamba. Gac Med 2005:3-7.
23. Gutiérrez M, Granda A, Bonachea H. Determinación de la sensibilidad antimicrobiana en cepas de *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, aisladas de alimentos. Rev Cub Cien Vet 2008; 31(1-2):15-19.
24. Morar A, Sala C, Imre K. Occurrence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates recovered from the pig slaughter process in Romania. J Infect Dev Ctries 2015; 9(1):99-104.
25. Schmidt JW, Brichta-Harhay DM, Kalchayanand N, Bosilevac JM, Shackelford SD, Wheeler TL et al. Prevalence, Enumeration, Serotypes, and Antimicrobial Resistance Phenotypes of *Salmonella enterica* Isolates from Carcasses at Two Large United States Pork Processing Plants Appl Environ Microb 2012; 78(8):2716-2726.
26. Afema JA, Byarugaba DK, Shah DH, Atukwase E, Nambi M, Sicho WM. Potential Sources and Transmission of *Salmonella* and Antimicrobial Resistance in Kampala, Uganda. Plos One 2016; 11(3):e0152130.
27. Osman KM, Marouf SH, Zolnikov TR, AlAtfeehy N. Isolation and characterization of *Salmonella enterica* in day-old ducklings in Egypt. Pathog Glob Health 2014; 108(1):37-48.
28. Stipetic K, Chang Y-C, Peters K, Salem A, Doiphode SH, McDonough PL et al. The risk of carriage of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in food animals in dynamic populations. Vet Med Sci 2016; 2(4):246-254
29. Cui M, Xie M, Qu Z, Zhao S, Wang J, Wang Y et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from an integrated broiler chicken supply chain in Qingdao, China. Food Cont 2016; 62:270-276.
30. Correia-Gomes C, Mendonça D, Veira-Pinto M, Niza-Ribeiro J. Risk factors for *Salmonella* sp. in pig lymph nodes in Portuguese abattoirs. Revue Méd Vét, 2013; 164(4):212-218.
31. Wang B, Wesley IV, McKean JD, O'Connor AM. Sub-iliac lymph nodes at slaughter lack ability to predict *Salmonella enterica* prevalence for swine farms. Foodborne Pathog Dis 2010; 7(7):795-800.
32. Bird P, Flannery J, Crowley E, Agin JR, Goins D, Monteroso L. Evaluation of the 3M™ Molecular Detection Assay (MDA) 2 - *Salmonella* for the Detection of *Salmonella* spp. in Select Foods and Environmental Surfaces: Collaborative Study, First Action 2016.01. J AOAC Int 2016; 99(4):980-997.