



## PATÓGENOS ZONÓNICOS EN EL CERDO IBÉRICO: SEGUIMIENTO EN LA CADENA ALIMENTARIA Y ESTRATEGIAS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

**Rafael Jesús Astorga Márquez**

Medicina Preventiva y Política Sanitaria

Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria de Córdoba

Campus Internacional de Excelencia Agroalimentaria (ceiA3)

<sa1asmr@uco.es>

### I. INTRODUCCIÓN

La dehesa del Valle de los Pedroches, que obtuvo de los árabes la denominación de 'Valle de las bellotas', es un extenso ecosistema de encinas y alcornoques que cubre un total de 300.000 hectáreas, lo que la convierte en la más extensa de la península y, *por ende*, del mundo. Esta dehesa es un ejemplo de desarrollo sostenible que aglutina aspectos productivos, ambientales, así como culturales y patrimoniales.

La dehesa es un espacio en el que habitan especies tan emblemáticas como el águila real, el águila imperial, el lince Ibérico o la última población de lobo Ibérico del sur de España; y como no, el rey de la dehesa, el cerdo Ibérico.



La explotación del ganado porcino Ibérico en el ecosistema de dehesa, donde se realiza la montanera, condiciona que los animales se vean expuestos continuamente a múltiples factores ambientales que favorecen la diseminación de patógenos, y sobre los cuales no resulta fácil actuar.

En este tipo de producción extensiva, o semiextensiva en algunos casos, tiene mucha influencia el estrecho contacto de los animales entre sí, con el medio y con otras especies animales, siendo frecuente la presencia de roedores, animales peridomésticos e incluso animales salvajes (jabalíes, zorros, aves silvestres) en los alrededores, que juegan un importante papel en la epidemiología de diferentes patógenos: *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Brucella* spp., virus Aujeszky, Peste Porcina Clásica (PPC), Peste Porcina Africana (PPA), Tuberculosis, etcétera.

La actual legislación comunitaria y nacional sobre Higiene de los alimentos y Sanidad Animal confiere una gran importancia a la protección de la salud humana frente a las zoonosis. Los resultados de los sistemas de recopilación de datos sobre estas enfermedades, indican que ciertos agentes patógenos de origen porcino 'potencialmente zoonóticos' son los causantes de la mayor parte de casos de estas enfermedades en las personas (EFSA, 2015).

Por todo ello, la actuación veterinaria en el ámbito de la sanidad animal y seguridad alimentaria del cerdo Ibérico debe estar dirigida a la obtención de un doble objetivo.

#### Objetivo 1. Excelencia sanitaria

- Explotaciones libres de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDOs).
- Explotaciones libres de brucelosis (*B. suis*).
- Reducción de la prevalencia de patógenos: Complejo Respiratorio Porcino, Complejo Entérico Porcino, Influenza, PRRS, PCV-2, Mal Rojo, Estreptococias, Salmonelosis, Leptospirosis.

#### Objetivo 2. Control del riesgo alimentario

- Control de zoonosis / Procesos piogranulomatosos.
- Diseño de programas de mejora:  
*Manejo pre-sacrificio; estudios descriptivos de patógenos; aplicación planes APPCC; códigos de Buenas prácticas.*

A través de varios proyectos desarrollados en los últimos 8 años por el grupo de investigación de la Universidad de Córdoba AGR 256 'Sanidad Animal: diagnóstico y control de enfermedades', expondremos los resultados más relevantes en el estudio de patógenos zoonóticos del cerdo Ibérico, así como las estrategias de diagnóstico laboratorial diseñadas; asimismo, detallaremos aquellos aspectos relacionados con la difusión y transferencia de estos resultados.

## **II. PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN: SANIDAD ANIMAL Y SEGURIDAD ALIMENTARIA EN EL CERDO IBÉRICO.**

- SANIBÉRICO (Ref: IDI-20090414). Estudio de evaluación y mejora de la sanidad animal y seguridad alimentaria en el cerdo Ibérico. 01/04/2008-31/12/2010.
- SAFE PORK (Ref IDI-20120176). Zoonosis Alimentarias en el cerdo Ibérico: prevalencia y control para la obtención de alimentos seguros. 01/09/2012-31/08/2014.
- TOXOFREE (Ref IDI-20120176). Toxoplasmosis: clasificación, herramientas diagnósticas y viabilidad del parásito tras el procesado. 14/02/2012-14/04/2014.
- SISTEMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE *Clostridium difficile* CON IMPLICACIONES EN SANIDAD ANIMAL Y SEGURIDAD ALIMENTARIA (Ref. AGL2013-46116-R). Proyectos I+D+i: 'Programa estatal de investigación, desarrollo e innovación orientada a los retos de la sociedad'. Convocatoria 2013.
- MEDIDAS SANITARIAS PARA EL CONTROL DE UN BROTE DE BRUCELOSIS EN CERDO IBÉRICO. Contrato Artº 83 OTRI (UCO). 15/09/2015-15/06/2016.

**(SANIBÉRICO) Estudio de evaluación y mejora de la sanidad animal y seguridad alimentaria en el cerdo Ibérico.**

#### **Estrategias de diagnóstico:**

- Kits ELISA.
- Cultivo microbiológico (ISO 6579:2002).
- Serotipificación (Biorad<sup>R</sup>).
- Fagotipia. Int. Phage Typing Reference Laboratory (Colindale, London, UK).
- Ensayos *in vitro*. (CLSI) documents M100-S15/2005 y M31-A3/2008.
- Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE).

## Objetivos y resultados más relevantes:

### Objetivo 1. Evaluación de la seroprevalencia y difusión de infecciones e infestaciones de interés para la salud pública.

- Nuestro estudio detecta un alto riesgo de infección frente a *Salmonella* spp. y *Toxoplasma gondii*, debido a la alta seroprevalencia hallada en la población muestreada (73,4% y 58,2%, respectivamente), lo que sugiere que deben adoptarse medidas de control para minimizar su potencial transmisión de la granja a la mesa.
- Por el contrario, los bajos niveles de prevalencia detectados frente a *Brucella* spp. y *Trichinella* spp. (3,8% y negativo, respectivamente), indican que estos microorganismos representan un bajo riesgo de infección para la población.
- Los patógenos zoonóticos indagados han sido previamente detectados en jabalíes con similares tasas de seroprevalencia (Gauss et al., 2005; Montagnaro et al., 2010), por lo que se deben implementar medidas de control que eviten el contacto entre esta especie silvestre y el cerdo Ibérico.

### Objetivo 2. Prevalencia y sensibilidad *in vitro* de cepas de *Salmonella* spp. en la cabaña del cerdo Ibérico.

- La prevalencia de infección por *Salmonella* spp. en las granjas muestreadas (33%) es similar a la observada previamente en sistemas intensivos en la misma zona geográfica; además, se detectan serotipos poco comunes de origen silvestre (ej. Mikawasima, Hessarek).
- Los niveles de resistencia y multiresistencia antimicrobiana (MDR) son sensiblemente menores a los encontrados en sistemas productivos intensivos (36% vs 64%).

### Objetivo 3. Determinación de la prevalencia de *Salmonella* spp. a través de la cadena de sacrificio (Transporte, Corrales, Matadero, TCM).

- Los puntos de mayor contaminación de *Salmonella* spp. en el matadero son: camiones (23,21%), corrales (14,06%) y muestras de canales (ciego, 21,25%; tonsilas, 17,50%; nódulos linfáticos ileocólicos, 16,25%).
- El escaldado es un factor de protección (Odds Ratio/IC<sub>95</sub>, estimación  $\chi^2$ , Winepi) frente a la contaminación por *Salmonella* spp. (36,25% vs 8,75%).
- La detección de genotipos idénticos de *Salmonella* spp. a partir de muestras, tanto de origen animal como ambientales, constata la existencia de contaminación cruzada, así como el riesgo de contaminación de la carne de cerdo Ibérico en los ambientes pre- y post-sacrificio.
- El Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) de *Salmonella* spp. en el matadero de cerdo Ibérico debe incluir estrictos protocolos de limpieza y desinfección de los vehículos de transporte, corrales de espera y ambiente pre-sacrificio, así como la inclusión de nuevos agentes químicos o equipamientos que eviten o minimicen la contaminación o re-contaminación ambiental y la contaminación cruzada.

## Difusión de resultados:

Actividad investigadora	Descripción
Artículos JCR	Veterinary Journal (2010). International Journal of Food Protection (2013). Transboundary and Emerging Diseases (2014).
Artículos Divulgación	Revista Producción Animal (2009a, 2009b). SUIS (2010) / AECERIBER (2010) / SUIS (2011). Laboratorio Veterinario Avedila (2013).
Capítulos de libros	Sólo Cerdo Ibérico: 25º Aniversario AECERIBER.
Congresos (Posters/comunicaciones)	Kausal (Bilbao, 2010). i3S Salmonella & Salmonellosis (Saint Malo, 2010). 7th Int. Symposium Mediterranean pig (Córdoba, 2010). Safepork (Maastricht, 2011). i3S Salmonella & Salmonellosis (Saint Malo, 2013).
Ponencias en Congresos	7th International Symposium on the Mediterranean pig (Córdoba, 2010).
Ponencias en Jornadas	Jornada Técnica Sector Cárnico (OTRI, 2010). Salmonella & Trichinella in swine diagnostic and control (WAVL. Madrid, 2009).
Trabajos fin de Máster	Estudio de prevalencia de <i>Salmonella</i> en el cerdo ibérico: seguimiento en transportes, corrales de espera, faenado y despiece. 2011. Estudio serológico de agentes patógenos 'potencialmente zoonóticos' en el cerdo ibérico. 2011.
Tesis Doctorales	Estudio de Evaluación y mejora de la sanidad y seguridad alimentaria del ganado porcino ibérico. 2013.
Informes Técnicos	Situación de la Comarca del Valle de los Pedroches: Sanidad Animal & Seguridad Alimentaria' (2009). Plan estratégico del sector Porcino Ibérico (2010).

### (SAFEPORK) Zoonosis Alimentarias en el cerdo Ibérico: prevalencia y control para la obtención de alimentos seguros.

#### Estrategias de diagnóstico:

- Kits ELISA: Salmotype Pig Screen+E / PigType YopScreen.
- Cultivos microbiológicos:
  - *Salmonella* spp. (ISO 6579:2002); *Yersinia enterocolitica* (ISO 10273:2004);
  - *Campylobacter* spp. (ISO 10272-1:2006); *L. monocytogenes* (ISO 11290-2:2000)
- Tipificación/fagotipia; aglutinación látex; PCR específicas.
- Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE).

#### Objetivos y resultados más relevantes:

##### Objetivo 1. Determinar la carga potencial de agentes zoonóticos de carácter alimentario mediante estudio de seroprevalencia.

- A pesar de haber establecido dos puntos de corte diferentes (20% y 40%) el 100% de las explotaciones fueron positivas frente a la detección de anticuerpos de ambos microorganismos. No obstante, se constata una disminución en la prevalencia individual, que fue más acentuada en el caso de *Salmonella*.
- Estos resultados ponen de manifiesto la alta tasa de exposición de los microorganismos seleccionados en este estudio.

**Objetivo 2. Determinar la carga potencial de agentes zoonóticos en canales y producto primario a partir de muestreos en matadero.**

- Las prevalencias de aislamiento de los distintos patógenos zoonóticos fue: *Campylobacter* spp. (17,3%), *Salmonella* spp. (12,9%), *Listeria monocytogenes* (9%); *Yersinia enterocolitica* (3,7%).
- Los porcentajes de aislamiento más altos según tipo de muestra fueron: heces (*Campylobacter*, 58%), tonsilas (*Listeria*, 39%; *Salmonella*, 30%).
- Los serotipos de *Salmonella* más frecuentes fueron: mST (21 cepas), Anatum (20), Typhimurium (17); y los fagotipos U302 (mST) y 193 (Typhimurium)
- La distribución de especies de *Campylobacter* spp. fue: *C. coli* (71 cepas), *C. jejuni* (2), *Campylobacter* spp. (31).
- Los serotipos más frecuentes de *Listeria* detectados fueron: 4b (40 cepas), 1/2a (28).
- El estudio genético (PFGE) a partir de las cepas de *Salmonella enterica* pone de manifiesto la contaminación de la carne a partir de muestras de origen animal.
- En el caso de *L. monocytogenes* los resultados del estudio PFGE muestran que la contaminación de la carne pudo deberse a una contaminación ambiental más que a una contaminación de origen animal.

**Difusión de resultados:**

Actividad investigadora	Descripción
<b>Congresos (Posters/comunicaciones)</b>	-ESPHM 2013, 5th European Symposium of Porcine Health and Management “Serosurvey of Salmonella spp. and Yersinia spp. in fattening pigs reared in free-range systems” (22-24 May, 2013, Edinburgh). -ESPHM 2013, 5th European Symposium of Porcine Health and Management “Interannual variability on seroprevalence of Salmonella spp. in free-range fattening pigs in South Spain” (22-24 May, 2013, Edinburgh). -ESPHM 2014, 6th European Symposium of Porcine Health and Management “Efficacy of hydroalcoholic disinfection on Salmonella prevalence in a pig slaughterhouse” (7-9 May, 2014, Sorrento). -ESPHM 2014, 6th European Symposium of Porcine Health and Management “Prevalence of Campylobacter spp., Salmonella spp. and Listeria monocytogenes in two free-range pig slaughterhouses” (7-9 May, 2014, Sorrento). -3s salmonella and salmonellosis Congress. Salmonella prevalence and characterization in a free-range pig slaughterhouse in two periods (2010 and 2013). 6-8 June, 2016. Saint-Maló (France).
<b>Trabajos fin de Máster</b>	Estudio de viabilidad durante el proceso de curación de la caña de lomo ibérica de los principales microorganismos implicados en las zoonosis alimentarias. 2015.

**(TOXOFREE) Toxoplasmosis: clasificación, herramientas diagnósticas y viabilidad del parásito tras el procesado.**

**Estrategias de diagnóstico:**

- ELISA Priocheck® Toxoplasma AB Porcine (Prionics).
- ELISA (IDVet Toxoplasma).
- rtPCR; Histopatología; Inmunohistoquímica.

**Pruebas biológicas:**

- Ensayo experimental modelo porcino.
- Ensayo experimental modelo murino.

**Objetivos y resultados más relevantes:**

**Objetivo 1. Establecer un sistema de clasificación de las explotaciones de porcino en función de la seroprevalencia mostrada frente a *Toxoplasma gondii*.**

- El estudio preliminar de selección de granjas mostró los siguientes resultados (12 granjas analizadas/1112 animales): prevalencia global (100%), prevalencia individual (40,2%), prevalencia intrgranja (38%). Clasificación 'Tg0' a 'Tg4'.
- Seleccionamos una granja 'Tg1' en la que se realiza un nuevo chequeo serológico y entre los animales seronegativos se eligen 15 para el ensayo experimental de inoculación de *T. gondii*.

**Objetivo 2. Determinar la influencia de distintas dosis de *T. gondii* mediante un modelo de infección experimental porcino (cepa TgH 00001, BCR *Toxoplasma*).**

- *Toxoplasma gondii* presenta diferente tropismo tisular según dosis infectante.
- En muestras de corazón, lengua y músculo masetero los resultados son similares con independencia de la dosis infectiva (baja/alta dosis).
- La detección de *T. gondii* (DNA) fue más frecuente en muestras de *pool* de carne (jamón, paleta, lomo), a partir de animales infectados con dosis altas, lo que indica un alto riesgo potencial de contaminación en el producto final.

**En referencia a la comparación de técnicas diagnósticas en cerdos infectados experimentalmente (dosis bajas/dosis altas), los resultados revelan:**

- La rtPCR mostró diferencias significativas según dosis infectante (ej. cerebro y carne); mayor sensibilidad en muestras de corazón, masetero, nódulo linfático mesentérico y riñón.
- El examen histopatológico no detectó presencia parasitaria; la inmunohistoquímica resultó positiva de forma variable en algunas muestras de animales (dosis altas).
- Los bioensayos felinos y murinos sólo detectaron presencia parasitaria en el grupo 1 (dosis altas).
- Estos resultados resaltan la importancia del tejido estudiado y la dosis infectiva a la hora de diagnosticar cuadros de toxoplasmosis temprana en porcinos ibéricos.

**Objetivo 3. Determinar la supervivencia y capacidad infectiva de *T. gondii* en embutido, paletas y jamones de origen porcino en las distintas fases de su proceso de curación.**

- **Embutidos (salchichón).**  
Carne fresca / Fase intermedia / Fase final curación (2 meses).  
*Bioensayos en ratones (cerebro) / PCR / IHQ.*

- **Paletas**  
Fase intermedia (3-4 meses) / Fase final (18 meses) / Loncheado (congelado).  
*Pool* carne distintas zonas.  
*Bioensayos en ratones (cerebro) / PCR / IHQ*
- **Jamones**  
Fase intermedia I (3-4 m) / Fase intermedia II (18 m) / Fase final (24-36 m)  
*Pool* carne distintas zonas.  
*Bioensayos en ratones (cerebro) / PCR / IHQ*

#### Difusión de resultados:

Actividad investigadora	Descripción
<b>Congresos Posters/comunicaciones</b>	-Distribution of <i>Toxoplasma gondii</i> in pigs with a high and a low dose of infection. 24 <sup>th</sup> IPVS 2016/8 <sup>th</sup> ESPHM. 7th-10th June, Dublin. -Diagnóstico de toxoplasmosis temprana porcina: comparativa de técnicas diagnósticas. XXVIII Reunión de la S.E.A.P.V. 8-10 junio, Córdoba. 2016. -Comparative study of diagnostic techniques for detection of early infection with toxoplasma in pigs. ESVP-ECVP Annual Meeting. 7-10 <sup>th</sup> September 2016, Bologna, Italy.
<b>Trabajos fin de Máster</b>	Toxoplasmosis en cerdo ibérico: estudio de seroprevalencia y catalogación de explotaciones. 2013

### SISTEMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE *Clostridium difficile* CON IMPLICACIONES EN SANIDAD ANIMAL Y SEGURIDAD ALIMENTARIA.

Este proyecto, dirigido y coordinado por los investigadores D. José Luís Blanco Cancelo y D<sup>a</sup> Marta E. García del Dpto. de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de la UCM, ha desarrollado una línea específica de investigación **<Estudio de *Clostridium difficile* y *Clostridium perfringens* en el cerdo Ibérico>**, en la que nuestro grupo ha colaborado estrechamente.

#### Estrategias de diagnóstico:

- Cultivo microbiológico (Blanco et al., 2013).
- PCR - Ribotipificación (Dr. Kuijper, Universidad de Leiden, Holanda).  
(PHLS Anaerobic Reference Unit) (Dr. Wilcox, University of Leeds, UK).
- Multiplex PCR. Detección de toxinas *TcdA*, *TcdB* y CDT (CD transferasa).
- Ensayos de sensibilidad antimicrobiana (E-test).

#### Objetivos y resultados más relevantes:

##### Objetivo 1. Caracterización y sensibilidad *in vitro* de *C. difficile* (CD) en lechones ibéricos.

- CD fue detectado en 41/160 muestras fecales (25,6%), y en animales de más de 50 días; aunque la mayoría de las muestras positivas fueron de animales de ≤15 días (75%)
- El estudio de PCR-ribotipificación de las cepas aisladas mostró que pertenecían al ribotipo emergente y virulento RT 078; además, todas las cepas portaban los genes que codifican las toxinas A (*TcdA*), B (*TcdB*) y toxina adicional binaria (CDT).

- El ensayo *in vitro* (e-test) mostró sensibilidad a linezolid, metronidazol, moxifloxacina, rifampicina, teicoplanina, tigeciclina y vancomicina; sólo uno de estos aislados (16.7%) fue resistente a daptomicina (MIC = 2 µg/ml), lo que contrasta con la alta prevalencia de cepas resistentes a este antimicrobiano detectada en cerdos de cría intensiva (>30%, Peláez et al, DNP).
- Nuestros resultados demuestran que los lechones de cerdo Ibérico constituyen un reservorio potencial de cepas de *Clostridium difficile* RT 078.

#### **Objetivo 2. Seguimiento de *C. difficile* (CD) y *C. perfringens* (CP) en la cadena alimentaria del cerdo Ibérico.**

- Prevalencias globales: CD (39/310=12,6%) y CP (34/310=11%).
- Camiones (CD=80%/CP=15%), Corrales (37.5%/0%), Pre-escaldado (45%/10%), Post-escaldado (5%/0%), Tonsilas (0%/10%), Ciego (15%/85%) y Recto (15%/45%), Agua escaldado (CD, 2.9%), Despiece (CP, 1.7%).
- Resultados preliminares del ensayo de PCR-ribotipificación: RT 078 (11 cepas); RT 110 (3); RT 013 (1); RT 126 (1); RT 181 (1); RT 202 (1); RT 572 (1).
- El aislamiento de CD/CP a partir de muestras de origen animal y/o ambientales supone un gran riesgo de contaminación en la cadena de sacrificio del cerdo Ibérico.
- Los procesos de L+D en los ambientes pre- y post-sacrificio son fundamentales para reducir o minimizar el riesgo de transmisión alimentaria de clostridios toxigénicos.

#### **Difusión de resultados:**

ACTIVIDAD INVESTIGADORA	DESCRIPCIÓN
Artículos JCR	High prevalence of the epidemic <i>Clostridium difficile</i> PCR ribotype 078 in Iberian free-range pigs. <i>Research in Veterinary Science</i> . 95 (2013) 358–361.
Congresos Posters/comunicaciones	- High recovery rate of <i>Clostridium difficile</i> PCR ribotype 078 in Iberian free-range pigs. 4 <sup>th</sup> International <i>Clostridium difficile</i> . Symposium, 2012, Bled, Slovenia. - Prevalence of <i>Clostridium difficile</i> and <i>Clostridium perfringens</i> in a free-range pig processing plant. 4 <sup>th</sup> Congress of the European Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (EAVLD). 6-9 November 2016. Prague, Czech Republic.

#### **MEDIDAS SANITARIAS PARA EL CONTROL DE UN BROTE DE BRUCELOSIS EN CERDO IBÉRICO. Contrato Artº 83 OTRI (UCO).**

Los resultados de este proyecto han sido incluidos en el apartado de resúmenes de posters (libro de actas del XXI Simposio AVEDILA).



### III. CONCLUSIONES

- (*Sanibérico*) El Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) de *Salmonella* spp. en el matadero de cerdo Ibérico debe incluir estrictos protocolos de L+D de los vehículos de transporte, corrales de espera y ambiente pre-sacrificio, así como la inclusión de nuevos agentes químicos o equipamientos que eviten o minimicen la contaminación o re-contaminación ambiental y la contaminación cruzada.
- (*Safepork*) (i) Las prevalencias de aislamiento de los distintos patógenos zoonóticos fue: *Campylobacter* spp. (17,3%), *Salmonella* spp. (12,9%), *Listeria monocytogenes* (9%); *Yersinia enterocolitica* (3,7%); (ii) El estudio genético (PFGE) a partir de las cepas de *Salmonella enterica* pone de manifiesto la contaminación de la carne a partir de muestras de origen animal. En el caso de *L. monocytogenes* la contaminación de la carne pudo tener un origen ambiental.
- (*Toxofree*) (i) *Toxoplasma gondii* presenta diferente tropismo tisular según dosis infectante. En muestras de corazón, lengua y músculo masetero los resultados son similares con independencia de la dosis infectiva (baja/alta dosis). La detección de *T. gondii* (DNA) fue más frecuente en muestras de *pool* de carne (jamón, paleta, lomo), a partir de animales infectados con dosis altas, lo que indica un alto riesgo potencial de contaminación en el producto final. (ii) Los resultados del estudio comparativo de técnicas resaltan la importancia del tejido estudiado y la dosis infectiva a la hora de diagnosticar cuadros de toxoplasmosis temprana en porcinos ibéricos.
- (*Clostridium difficile/Clostridium perfringens*) (i) El aislamiento de CD/CP a partir de muestras de origen animal y/o ambientales supone un gran riesgo de contaminación en la cadena de sacrificio del cerdo Ibérico. (ii) Los ensayos de PCR-Ribotipificación muestran una mayor diversidad de ribotipos de CD en las muestras aisladas en la cadena de sacrificio respecto a las procedentes de lechones.

### IV. AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento y reconocimiento a los organizadores del XXI Simposio Anual de AVEDILA (Murcia, 2016), y especialmente a la profesora D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> José Cubero Pablo, catedrática del Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Murcia, y a D. Ginés López Martínez, director del Laboratorio Agroalimentario y de Sanidad Animal de la Región de Murcia, por su magnífico trabajo organizativo y científico.

Asimismo, deseo felicitar a los investigadores, empresas farmacéuticas, laboratorios e instituciones públicas y privadas que año tras año nos acompañan en este evento nacional, y que facilitan la difusión de los avances científicos en el diagnóstico en Sanidad Animal, objetivo principal de la Asociación de Veterinarios Especialistas en Diagnóstico Laboratorial (AVEDILA).

### V. BIBLIOGRAFÍA

Las diferentes referencias bibliográficas de esta ponencia han sido reflejadas en el apartado 'difusión de resultados' en los respectivos proyectos de investigación.