

ESTUDIO DE LA CONTAMINACION CON ENTEROBACTERIACEAS EN CONCENTRADOS PARA ANIMALES

I AISLAMIENTO DE SALMONELLA Y OTROS PATOGENOS

GUSTAVO MANRIQUE ¹, M. V. Z., M. S.

HERNÁN MORALES ², D. M. V. Z.

JOSÉ MARÍA JIMÉNEZ ³, D. M. V. Z.

INTRODUCCION

El género *Salmonella* puede servir como un modelo indicador de los agentes productores de enfermedad que pueden ser transmitidas a través de los subproductos de origen animal, tales como harina de pescado y de hueso y otras materias primas que generalmente son procesadas para ser usadas en la preparación de concentrados para los animales.

Al investigar los brotes de salmonellosis humana, generalmente resulta que las aves o sus subproductos o los alimentos que contienen huevo son los responsables. Los grandes animales, tales como el ganado y los cerdos, también se encuentran contaminados. Cada vez es más alarmante el número de *Salmonellas* aisladas de tales animales en Colombia (16).

El objeto del presente trabajo fue el demostrar la contaminación de concentrados preparados en el país con organismos patógenos, usando la presencia de *Salmonellas* como un indicador de dicha contaminación.

Revisando la literatura nacional no se han encontrado brotes de salmonellosis en

animales cuyo origen se haya comprobado sea por alimentos contaminados.

El aislamiento de estos organismos de animales domésticos y sus productos, han sido publicados por Plata Guerrero (13), Schultze y Caicedo (17), Roquebert y Perdomo (16), Bravo y García (2), González y Hernández (5), pero no hay referencias de aislamientos efectuados en concentrados.

En la literatura extranjera hay relativamente pocos reportes de brotes de salmonellosis en animales causados por alimentos contaminados (11, 18, 1, 15) en contraste con las numerosas publicaciones sobre brotes en humanos. Investigaciones hechas en los corrales de los mataderos y en las plantas de procesamiento de subproductos de origen animal han revelado que un gran número de animales son por-

¹ Director Nacional de Diagnóstico y Servicios al Campo, Instituto Colombiano Agropecuario.

² Profesor Asistente de Microbiología (Bacteriología).

³ Patólogo Asistente, Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias. ICA.

tadores de *Salmonella* y que la presencia de estos organismos no es poco frecuente en los subproductos de origen animal (4, 7, 12).

En un programa que cubrió muestras de todo el país en Estados Unidos, Morehouse y Wedman (10) encontraron *Salmonella* en 12.75% en los subproductos de origen animal. Pomeroy (14) en el mismo año aisló 43 serotipos en 22 Estados de los Estados Unidos y Canadá de los mismos subproductos. Moyle (9) publicó que el 10% de las muestras de las plantas de procesamiento de Wisconsin eran positivas a *Salmonella* sp. Clise y Swecker (1) encontraron que gallinas alimentadas con preparados comerciales a los cuales se les había adicionado suplementos alimenticios contaminados eliminaban *Salmonella*. Varios animales sin diarrea también las eliminaban. Estos ejemplos, entre muchos otros, dan una idea de las graves consecuencias de dar alimentos contaminados a los animales.

MATERIALES Y METODOS

Las muestras de los concentrados fueron tomadas en su mayoría de los almacenes distribuidores de diferentes regiones del país, así: Sabana de Bogotá, Tolima, Valle, Antioquia y Costa Atlántica. De cada tambor o caneca se tomó un promedio de 50 gramos de concentrado con un barreno. Las muestras se empacaban en bolsas de plástico, las cuales se cerraban inmediatamente, se rotulaban y se enviaban al laboratorio. Siempre se trató de tomar muestras representativas, para lo cual se hicieron varias penetraciones en diferentes partes del tambor.

En total se trabajaron 68 muestras que incluyeron alimentos para ratones, aves, pollitos, pollos de engorde, ponedoras,

pavos, cerdos, ganado de leche, ganado de carne, perros y caballos.

Cada concentrado se sembró en 50 ml de caldo manitol como medio de pre-enriquecimiento en la proporción de un 10 a 20%. El porcentaje de la muestra sembrada se calculó de acuerdo a la sospecha de contaminación así como la composición de la misma según lo recomiendan Grumbles (6) y Leistner et al (7). Luego de un período de incubación de 24 horas se sembró 10% de caldo manitol (3) en caldo selenita y caldo tetratio-nato según Leistner et al (7). Después de 24 y 48 horas se repicó una anzada de caldo selenita y de tetratio-nato en los siguientes medios: agar bismuto sulfito (3) agar salmonella shiguela (3) y agar verde brillante bilis (3). Cada caja de medio sembrado se examinó después de 24 horas de incubación a 37°C. Las colonias que no fermentaban la lactosa y que por ende tenían características sospechosas de *Salmonella* en cada medio diferencial se sembraban en los siguientes medios: triple azúcar y hierro (3) para ver la fermentación de dextrosa y para detectar la producción de H₂S y en medios para ver la producción de ureasa, indol, las reacciones de rojo de metilo y voges proskauer en el medio citrato de Simmons y en agar blando al 0.3% para movilidad (3).

A las cepas aisladas con las características de *Salmonella* en estos medios después de 24 horas se les hacía aglutinación con suero polivalente *Salmonella*. Los cultivos positivos se probaron con el serogrupo específico y finalmente se enviaron al Centro Nacional de Enterobacteráceas en Cali¹ para su confirmación.

¹ Universidad del Valle, Facultad de Medicina, Departamento de Medicina Preventiva.

RESULTADOS

De las 68 muestras trabajadas se aislaron 5 cepas de *Salmonella*, de 5 distintas muestras de concentrados. Estas muestras fueron tipificadas por el Centro Nacional de Enterobacteriáceas de Cali, así: dos cepas de *Salmonella enteritidis* y una de *Salmonella thomsonville* del repique del caldo selenita en agar SS; una cepa de *Salmonella thompson* de la siembra del medio tetracionato en agar bismuto y una de *Salmonella westerstede* del repique del medio tetracionato en agar SS.

Los cinco concentrados de los cuales se aisló *Salmonella* correspondían a alimentos para cerdos, aves y roedores.

Del total de muestras 28 resultaron estériles y el resto resultó contaminado con gérmenes potencialmente patógenos de la familia Enterobacteriácea (Tabla 1). Sólo hubo un aislamiento de una especie distinta a esta familia: *Pseudomona aeruginosa*.

Las especies de microorganismos del género *Proteus* aislados de los 12 concentrados se discriminaron así: seis *Proteus vulgaris*, tres *Proteus rettgeri*, dos *Proteus mirabilis* y un *Proteus morgani*.

De los seis gérmenes pertenecientes al grupo Providence, aislados de igual manera, cuatro pertenecían al grupo A y dos al grupo B.

Los aislamientos del género *Aerobacter* se clasificaron así: Dos del grupo A y dos del grupo C.

Los gérmenes de los géneros *Escherichia*, *Arizona*, *Serratia* y *Citrobacter* no fueron clasificados por especie ni serológicamente.

En la segunda parte de este trabajo Torres et al (19) determinaron el número de coliformes en la mayoría de las muestras trabajadas para gérmenes patógenos.

De las 40 muestras que resultaron contaminadas con gérmenes potencialmente

patógenos, 24 resultaron con un solo germen el cual fue aislado independientemente en agar verde brillante, en agar SS y en agar bismuto sulfito. Estos medios sólidos habían sido sembrados con repiques de los caldos selenita y tetracionato. Nueve concentrados presentaron dos clases de gérmenes y solo dos con tres clases de gérmenes diferentes. Hay que tener en cuenta que se estaba trabajando con medios selectivos y diferenciales para la familia Enterobacteriácea.

TABLA NUMERO 1

Número de muestras de las cuales se aisló.

5	<i>Salmonella</i>
9	<i>Escherichia</i>
6	Providencia
4	<i>Aerobacter</i>
1	Arizona
12	<i>Proteus</i>
1	<i>Serratia</i>
1	<i>Citrobacter</i>
1	<i>Pseudomonas</i>
28	Estériles
<hr/>	
68	TOTAL

De las cinco muestras de donde se aisló *Salmonella* una estaba contaminada con *Escherichia*, otra estaba contaminada con *Proteus morgani* bacterias de los géneros *Serratia* y *Arizona* y una tercera estaba contaminada con *Proteus mirabilis* y dos se aislaron en cultivo puro de los medios anteriormente citados.

DISCUSION

La contaminación de los subproductos de origen animal, tales como harina de huesos de pescados, de sangre y de carne, con *Salmonella* es muy elevada, no así los productos finales o concentrados prepa-

rados con estos ingredientes, quizás por la poca cantidad de estos productos utilizada en los concentrados. También es posible que los sistemas de cultivo no sean lo suficientemente efectivos como para detectar pequeños números de bacterias, aunque esto no fue cierto para algunas muestras pues según el trabajo de Torres et al (19) tenían un número excesivo de contaminantes.

No fue posible determinar el mecanismo de contaminación de dichos alimentos, pues esto puede ocurrir por medio del aire, el equipo, los empleados, roedores, pájaros, moscas y otras vías.

Este estudio mostró que no solamente organismos del género *Salmonella* sino otros también se encontraban presentes. Aún en el caso de que estos microorganismos estén presentes en número muy pequeño, ello constituye una manera fácil para la transmisión de la salmonellosis a diferentes especies animales.

No obstante que cinco de las 68 muestras de concentrados estaban contaminadas con *Salmonella*, ésta cifra no necesariamente representa el actual estado de contaminación a causa de los errores inherentes a la técnica.

Los métodos bacteriológicos usados en este estudio se basaron en las recomendaciones de otros investigadores quienes encontraron que una combinación de medios individuales daban resultados más positivos. Esta observación se confirmó en el presente trabajo. El caldo selenita y el agar SS dieron más aislamientos que cualquier otra combinación de medios. El uso de tetrionato y agar bismuto dio un aislamiento no obtenido con la combinación anterior.

Leistner et al (7) mostró que la mayoría de los productos de origen animal tenían muy pocos organismos del grupo *Salmonella* por gramo. En los concentra-

dos comerciales hay una baja considerable en el número de microorganismos lo cual puede ser un reflejo del largo tiempo de almacenamiento y del factor de dilución.

En el primer caso se ha comprobado que con una muestra puede haber hasta el 90% de reducción en el recuento de *Salmonella* después de 40 días de almacenamiento debido a la baja humedad relativa de los productos en donde no puede haber crecimiento bacterial.

Leistner et al (7) en el estudio de la metodología de la detección de la *Salmonella* comprobó diferentes resultados dependientes de la clase y cantidad de la muestra y de los medios usados, etc.

Teniendo presente no solamente este trabajo sino otros similares, es necesario tener en cuenta el balance que debe existir entre los medios enriquecidos y el material inhibidor como también el origen de la muestra.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Aunque este trabajo no incluyó un número de muestras representativas de los alimentos preparados en todas las regiones del país y para las diversas especies animales, se comprueba que la presencia de *Salmonella* en los concentrados para animales es prevalente junto con otro grupo de patógenos potenciales.

Estos alimentos por lo tanto pueden dar origen a brotes de enfermedades gastro-entéricas y generalizadas en los animales, aunque no se deben descartar otras posibles vías de contaminación.

Es muy notorio el índice de contaminación tanto por gérmenes patógenos como por coliformes y esto hace pensar que hay en nuestro país no solamente una falla en los métodos utilizados en la elaboración de dichos concentrados sino

también en los sistemas empleados en el manejo de dichos insumos y en el control de los mismos.

Se llama la atención a las entidades encargadas del control de estos alimentos para que se establezcan sistemas de control para evitar que los alimentos destinados a los animales sean causa potencial

de brotes de enfermedades no solamente por los problemas que esto implica a la economía pecuaria del país, sino también por el gran peligro que corre la población humana que diariamente está en contacto con los alimentos y que muchas veces consume alimentos preparados a partir de materia animal.

RESUMEN

Se estudiaron 68 muestras de concentrados para diversas especies animales tomadas de cinco regiones del país. Las muestras se enriquecieron en 50 ml de caldo manitol en proporción de 10 a 20% peso/volumen. 10% del caldo manitol se sembró en caldo selenita y en caldo tetrionato para enriquecimiento selectivo y de cada uno de ellos se repicó una asada en agar bismuto sulfito, agar SS y agar verde brillante como medios selectivos diferenciales. Los mejores resultados se obtuvieron con la combinación caldo selenita y agar SS. Todos los medios usados se obtuvieron en forma estandarizada y deshidratada.

De los medios sólidos se tomaron las colonias aisladas que fueran negativas a la fermentación de lactosa y se subcultivaron en medio SIM, agar triple azúcar hierro, agar urea, medio RM-VP y medio Simmons citrato. Con base a las reacciones bioquímicas encontradas, se clasificaron los géneros. En el caso del género *Salmonella* se hizo aglutinación con sue-

ro polivalente y luego serología específica para dar serotipo-especie. Se aislaron cinco cepas de *Salmonella*: dos de *S. enteritidis* y una de *S. thomastowne* (selenita-SS); una de *S. Thompson* (tetrionato-bismuto) y una de *S. weterstede* (tetrionato SS). Otros grupos aislados fueron: *Proteus*, seis *P. vulgaris*, tres *P. rettgeri*, dos *P. mirabilis* y un *P. morgani*. *Providencia*, cuatro grupo A y cuatro grupo B. *Acrobacter*, dos grupo A y dos grupo C. *Escherichia* sp, seis cepas, *Arizona*, una cepa, *Serratia* sp una cepa, *Citrobacter* sp una cepa. Se sugiere como fuente de contaminación especialmente los ingredientes de origen animal (harinas) usados en los concentrados aunque no se descartan otras fuentes ambientales: moscas, aves, hombre, equipo, etc. Se recomienda a las entidades de control tomar medidas para el control bacteriológico de los concentrados dirigidos a los animales y fáciles fuentes de contaminación para ellos y para el hombre.

AGRADECIMIENTOS

Los autores aprecian la desinteresada ayuda que les prestaron el doctor Osmane Hipólito, D.M.V. M.S. Ph D., Experto de Microbiología de la FAO, las licencia-

das en Bacteriología, señoritas Graciela Barrios y Stella Gómez, por su colaboración para la realización del presente trabajo.

REFERENCIAS

1. CLISE, J. D. y SWECKER, E. E. 1965. *Salmonella from Animals By-products*. Pub. Health Repts. 80: 10.
2. BRAVO, C. O. y GARCÍA, S. A. 1963. Investigación del Grupo *Salmonella* en carnes embutidas. Rev. Fac. Med. Vet. y Zootecnia, Bogotá, 126: 1031-1047.
3. Difco Laboratories.
4. GALTON, M. M., SMITH, W. V., MCEL RATH, H. B. y HARDY, A. V. 1954. *Salmonella in Swine Cattle and the Enrivoment of Abattoires*. J. Infect. Dis. 95: 236.
5. GONZÁLEZ, G. G. y HERNÁNDEZ, B. S. 1965. *Salmonella y Staphylococcus patógenos en carnes sin elaborar*. Tesis de grado. Facultad de Med. Vet. y Zootecnia, Universidad Nacional (Bogotá).
6. GRUMBLES, L. C. 1965. Recommended procedures for the Isolation of *Salmonella* organisms from Animals. Proc. 69th Mtg. U.S. L.S.A., 326.
7. LEISTNER, L., JOHNANTAGES, J., DEIBEL, R. H. and NIVEN, C. F., Jr. 1961. The occurrences and significance of *Salmonella* in meat Animals and Animal By-product feeds. Proc. 13th Res. Conf. Amer. Meat Inst. Found. N° 64: 9.
8. LEISTNER, L. DEIBEL, R. H., JOHNANTAGES, J. and NIVEN, C. P., Jr. 1963. Contribution to the Methodology of *Salmonella* Detection. Amer. Meat Inst. Found. Bull. N° 56.
9. MOYLE, A. I. 1966. *Salmonella in Rendering Plant By-products*. J. A. V. M. A. 149: 1172-1176.
10. MOREHOUSE, L. G. and WEDMAN. 1961. *Salmonella and other Disease Producing Organisms in Animal By-products a Survey*. J. A. V. M. A. 139: 889-995.
11. NEWELL, K. W., McCLARIN, R. W., MURDOCK, R. C., McDONALD, W. M. and NUTCHINSON, H. L. 1959. *Salmonellosis in Northern Ireland, with Special References to Pigs and Salmonella-contaminated Pig Meals*. J. Hyg. Camb. 57: 92.
12. NIVEN, G. F., Jr. 1964. *Control of Salmonella Problem. Role of the Meat Industry*, presented at the National Conference of Salmonellosis, C. D. C. Atlanta, Georgia.
13. PLATA-GUERRERO, R. 1932. *Salmonella enteritidis Gaertner como agente etiológico de una enfermedad de los terneros en las ganaderías del occidente colombiano*. Rev. Med. Vet. 27: 440-457.
14. POMEROY, B. S. 1961. *Salmonella Organisms Isolated from Feed Ingredients*. Proc. U. S. Livestock Sanitary Ass. 449-452.
15. ROBINSON, R. A. 1966. *New Zealand Vet. J.*, 14: 33-39. Abstracted in *Salmonella Surveillance Report*. N° 51 (1966).
16. ROQUEBERT, R. L. y PERDOMO, V. L. 1962. *Investigación sobre cerdos portadores de Salmonella en Colombia*. Tesis de Grado, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional (Bogotá).
17. SCHULTZE, E. y CAICEDO, R. 1945. *Diagnóstico serológico de unas cepas colombianas de Salmonella*. Rev. Med. Vet. 88: 43 - 50.
18. SMITH, H. W. 1960. *The effect of Feeding Pigs on food Naturally contaminated with Salmonella*. J. Hyg Camb. 58: 381.
19. TORRES, M. J., HELENA CARRILLO, V. CONTRINO y H. MORALES. 1969. *Trabajo presentado al VIII Congreso Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. Universidad del Tolima. Ibagué.