

EL VALOR AÑADIDO
DEL LABORATORIO: SALMONELLA
VII Jornadas de Avicultura de puesta de Trouw Nutrition

Rosa Amejeiras Rodríguez

Coordinador técnico del laboratorio de Patología e I+D.

INTRODUCCIÓN

Salmonella, perteneciente a la tribu Salmonellae en la familia Enterobacteriaceae, fue denominado así en honor al veterinario americano D. E. Salmon. Agrupa bacterias patógenas, tanto del hombre como de los animales, produciendo gastroenteritis de distinta gravedad, y fiebres entéricas ó tifoideas - paratifoideas.

Está representado por bacilos gramnegativos, no esporulados, anaerobios facultativos, móviles por flagelos peritricos (salvo *S. Gallinarum* y *S. Pullorum*, que son inmóviles). Una de sus características bioquímicas más importantes es su imposibilidad para acidificar la lactosa, por lo cual han sido designados como “enterobacterias lactosa negativa”. Existe un bajo porcentaje (0,3-0,8% según los autores) de cepas que son lactosa positivas como *S. arizonae*, que además poseen actividad β -galactosidasa (prueba ONPG). Las necesidades nutricionales de estos microorganismos son escasas y por esto crecen fácilmente en medios de cultivo comunes, aunque con frecuencia se necesitan medios altamente selectivos para aislarlos con mayor facilidad a partir de muestras polimicrobianas de distintos orígenes, como alimentos, heces, muestras clínicas, etc.

Actualmente el género *Salmonella* está subdividido en dos especies denominadas como *S. choleraesuis*, ésta está a su vez dividida en 6 subespecies designadas como I, II, IIIa, IIIb IV y V, y *S. bongori*.

(Hernández Haba, J. y Dubón Pérez, F., 1992)

La propuesta taxonómica de Ewing hace pensar, a primera vista, que una clasificación constituida por cerca de 2.300 serotipos diferentes de una misma especie, puede ser fuente de confusión. El dato práctico, sin embargo, dice que este serotipo se reduce notablemente, ya que el 95-98% de las cepas de *Salmonella* Enteritidis que producen enfermedades en el hombre pertenecen a un número de serotipos restringidos (aproximadamente 40).

Las salmonellas zoonóticas son *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Hadar* y *Virchow*, aunque en ponedoras solamente se tienen en cuenta las dos primeras.

Patogénesis.

Las infecciones de *Salmonella* son denominadas genéricamente salmonelosis, y diferenciadas en “principales” causadas por *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi - A, *Salmonella* Schottmuelleri, *S. Hirschfeldii* (anteriormente *Paratyphi* C) y “secundarias” (causadas por otros serotipos de *Salmonella* Enteritidis).

En general, las salmonelosis principales determinan una notable producción de anticuerpos, por el contrario, las salmonelosis secundarias producen un número de anticuerpos escaso o nulo.

Las *Salmonella* alcanzan el intestino delgado por vía oral. La dosis infectante mínima se sitúa alrededor de 10^5 - 10^6 bacterias, aunque en personas con aclorhidria o que han tomado recientemente antibióticos la infección puede producirse con 10^3 ufc.

DIAGNÓSTICO Y RESULTADOS

Los métodos seguidos para la detección de *Salmonella* en nuestro laboratorio están basados en normas internacionales y se realizan tanto ensayos

inmunológicos (ELISA), bacteriológicos (ISO 6579 y su anexo D específico para heces) como PCR real time.

Durante 2007 se realizaron 6214 determinaciones de Salmonella en distintas matrices en el laboratorio de Patología, lo que supone un aumento del 108%, debido principalmente a la necesidad de cubrir las exigencias de la administración sobre autocontroles destinados a reducir la prevalencia de determinados serotipos de Salmonella en las manadas de aves.

De las 6214, 1834 se han realizado por la técnica de PCR-RT que nos permite tener resultados negativos en unas 30 horas mientras que el cultivo tradicional lleva unos 4 días, como inconveniente presenta muestras positivas que no podemos confirmar por el método ISO. Por esto consideramos estos resultados como “falsos positivos” de acuerdo con el método oficial. Sin embargo, la técnica molecular es mas sensible que la microbiológica.

En cuanto a los resultados confirmados vemos como las heces de aves tienen un 17,75% de muestras contaminadas frente al 15,48 del año 2006, las calzas representan un 7,34%. En cuanto a muestras ambientales el polvo presenta un 16,67 frente al 42,86% del año anterior.

Las muestras de vísceras de ponedoras alcanzó un 37,78% de 45 casos estudiados aunque consideramos que son muestras sesgadas ya que proceden de problemas patológicos (enviadas por veterinarios de campo).

Con respecto al año anterior, en porcentaje global de presencias de Salmonella, la positividad en 2007 se situó en un 5,57% equivalente a los resultados obtenidos el año anterior

Con respecto a los 5 serovares zoonóticos (*S. Enteritidis*, *S. Thiphymurium*, *S. Virchow*, *S. Infantis* y *S. Hadar*) el porcentaje global se sitúa en un 80.27% de los aislamientos realizados. *S. Enteritidis* sigue siendo el serovar más aislado con un 61.82% de 238 de los aislamientos realizados, el resto por orden de relevancia aunque muy lejos de ésta son *S. Infantis* (7.01%), *S. Thiphymurium* (4.42%), *S. Hadar* (2.86%) y *S. Virchow* (1.04%).

Cabe destacar *S. Ohio* como serovar más aislado después de las salmonellas zoonóticas con un 6.23%.

En el laboratorio de microbiología durante 2007 se realizaron 8281 determinaciones de *Salmonella* en distintas matrices (piensos y materias primas) comparando los resultados obtenidos en 2005 y 2006 y en porcentajes absolutos, el total de aislamientos ha disminuido a un 1,82% próximo al valor obtenido en 2005 (1,26%) frente al 3,6% de 2006.

Cabe destacar como materias primas las pipas de girasol en la que hemos detectado un 15.38% de muestras con *Salmonella*. Los piensos en general presentan valores próximos a la media y las harinas de soja siguen siendo las que presenta mayor nivel de contaminación.

Se han analizado 616 muestras de pienso de ponedoras con un porcentaje de 2.44% de muestras positivas.

El porcentaje de *Salmonellas* zoonóticas aisladas en piensos y en materias primas es el mismo que en años anteriores (13.1%), el serovar más aislado ha sido *S. Tennessee* con un 8,28%.

Un paso adelante

En nuestro laboratorio se está poniendo en marcha un estudio basado en la aplicación de técnicas que estudian el ADN lo que nos puede permitir un conocimiento más exacto de la epidemiología de las enfermedades infecciosas. Las técnicas aplicadas en microbiología molecular, como el random amplification of polymorphic DNA (RAPD), han resultado de gran utilidad para caracterizar cepas. En esta técnica, el uso de iniciadores arbitrarios genera la amplificación de varios fragmentos del ADN y el patrón de bandas de los fragmentos permite establecer una diferencia entre una cepa y otra por tanto los iniciadores permiten detectar el polimorfismo del ADN y diferenciar incluso cepas de un mismo serotipo.

El estudio pretende pues detectar las diferencias entre cepas de *S. Enteritidis* aisladas de distintos orígenes y comprobar la diversidad existente.