

197.
2 ej



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Investigación y Caracterización de Algunos
Serotipos de Salmonella sp presentes
en Moluscos Bivalvos.

T E S I S
Que para Obtener el Título de
B I O L O G A
P r e s e n t a
ADRIANA TREVILLA SERRANO



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



MEXICO, D. F. FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:
**Investigación y caracterización de algunos serotipos de Salmonella sp
presentes en Moluscos Bivalvos.**

realizado por **ADRIANA TREVILLA SERRANO**

con número de cuenta 8631034-5 , pasante de la carrera de **Biología**

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis Q.B.P. ARTURO VARGAS TAPIA PRANDIZ
Propietario

Propietario Q.B.P. LETICIA MORENO SEPULVEDA

Propietario M.en C. JUAN SAINZ ROJAS

Suplente DRA. CLARA ESQUIVEL HUESCA

Suplente BIOL. MA. ANTONIETA ARIZMENDI ESPINOSA

Consejo Departamental de Biología

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

[Handwritten signatures and stamps of the faculty members]

**INVESTIGACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE
ALGUNOS SEROTIPOS DE *Salmonella* sp
PRESENTES EN MOLUSCOS BIVALVOS**

ESTE TRABAJO SE REALIZO EN EL LABORATORIO DE SEROTIPIFICACION
DEL DEPARTAMENTO DE EVALUACION DE RIESGOS MICROBIANOS Y
PARASITARIOS DEL LABORATORIO NACIONAL DE SALUD PUBLICA, BAJO
EL ASESORAMIENTO DEL Q. B. P. ARTURO VARGAS TAPIA PRANDIZ.

EL ESFUERZO REPRESENTADO EN ESTA TESIS ESTÁ DEDICADO A:

DIOS

POR PERMITIRME VIVIR Y GOZAR DE ESTA BELLA VIDA EN COMPAÑÍA DE
LAS PERSONAS A QUIEN AMO.

MIS PADRES RICARDO Y OFELIA

POR LOS CONSEJOS SIEMPRE CERTEROS QUE ORIENTARON MI CAMINO, EL APOYO Y COMPRENSION EN MIS MOMENTOS DIFICILES, TROPIEZOS Y CAIDAS; CON EL AMOR Y LA PACIENCIA QUE ESPERARON LA REALIZACION DE NUESTRO SUEÑO. POR ESE FRAGMENTO DE SUS VIDAS QUE HA QUEDADO PLASMADO EN LA MIA. POR TODO AQUELLO QUE NO LOGRARIA EXPRESAR CON MIL PALABRAS Y QUE TAN SOLO RESUMO EN UNA SOLA

G R A C I A S

MIS HERMANOS IGNACIO Y ARTURO

POR SU APOYO Y COMPRENSION. GRACIAS POR SER MIS AMIGOS Y CONSEJEROS EN TODO MOMENTO.

MIS FAMILIARES MATERNOS: ABUELOS, TIOS Y PRIMOS

GRACIAS POR SU AMOR Y APOYO.

TODOS MIS AMIGOS

CERCANOS Y LEJANOS, SEGUIRAN SIENDO SIEMPRE MIS AMIGOS A DONDE

QUIERA QUE ESTEN. GRACIAS POR TODO.

TI.

POR TUS CONSEJOS QUE ME HAN AYUDADO A SEGUIR ADELANTE. GRACIAS
POR TU AMOR , CARIÑO Y COMPRESION.

AL DEPARTAMENTO DE EVALUACION DE RIESGOS MICROBIANOS Y
PARASITARIOS DEL LABORATORIO NACIONAL DE SALUD PUBLICA.

Y A TODAS AQUELLAS PERSONAS CUYAS VIDAS HAN TOCADO LA MIA.

A MIS SINODALES :

Q. B. P. ARTURO VARGAS TAPIA PRANDIZ

Q. B. P. LETICIA MORENO SEPULVEDA

M. en C. JUAN SAINZ ROJAS

DRA. CLARA ESQUIVEL HUESCA

BIOL. MA. ANTONIETA ARIZMENDI ESPINOSA

C O N T E N I D O

	Páginas
Resumen.	1
Introducción.	3
Justificación.	13
Objetivos.	14
Metodología.	15
Resultados.	21
Discusión.	31
Conclusiones.	34
Anexos.	35
Bibliografía.	44

R E S U M E N

Salmonella spp es un bacilo Gram-negativo, anaerobio facultativo, no esporulado, móvil mediante flagelos peritricos, produce gas y ácido sulfhídrico en agar TSI. La temperatura óptima de crecimiento es de 33° a 37° C; el pH óptimo es de 6.5 a 7.5.

Este microorganismo es básicamente de origen zoonótico, con gran variedad de hospederos y con gran patogenicidad para el hombre y animales, es causante de la salmonelosis en el hombre, cuyas manifestaciones son diarrea, vómito, náuseas, cefalea y fiebre ocasional, tiene un período de incubación de 6-14 hrs. Tiene predilección por personas con hipoclorhidria e inmunodepresión.

Se han presentado evidencias de que este microorganismo produce una molécula similar a la toxina colérica; así la respuesta inflamatoria consecutiva a la invasión bacteriana se produce por la liberación de AMP cíclico que inhibe la absorción de sodio y potasio, aumentando la secreción de cloro, bicarbonato y agua.

Los moluscos bivalvos tienen el cuerpo lateralmente comprimido y protegido por una concha calcárea constituida por dos valvas unidas por un ligamento articular; están considerados como vehículos potenciales de microorganismos patógenos, entre los que se encuentra *Salmonella* spp, esta particularidad les ha sido conferida, ya que se caracterizan por ser animales filtradores, lo cual les permite concentrar bacterias y contaminantes en su organismo en cantidades superiores a las existentes en el agua circundante.

Para cumplir con los objetivos de caracterizar *Salmonella* spp en moluscos bivalvos se aplicó la metodología descrita en el U.S. Department of Health and Services.

Se analizaron 240 muestras de ostiones y almejas, de las cuales 56 (23 %) fueron positivas a *Salmonella* spp. La almeja casco fué el tipo de muestra con mayor incidencia de este microorganismo, 25 (10.4 %).

Se serotipificaron 43 (18 %) cepas, obteniéndose 17 serotipos diferentes de *Salmonella* spp. El serotipo más frecuente fué *Agona* con 11 cepas (25.6 %).

En cuanto a la procedencia de las muestras, Alvarado, Ver., obtuvo el 84 % de positividad a este microorganismo, siendo este el registro más alto en comparación a las demás localidades.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que la presencia de *Salmonella* spp en los bivalvos representa un riesgo actual para la salud de los consumidores.

INTRODUCCIÓN

Los moluscos bivalvos representan en la industria pesquera uno de los principales recursos marinos, ya que posee un alto valor comercial para las comunidades costeras, además de que sus costos de producción no son muy elevados en relación a la inversión requerida para la de otros grupos zoológicos (3, 30).

El aprovechamiento de éste recurso pesquero, ha obligado a regular su extracción en los bancos y yacimientos naturales existentes, facilitando mediante diversos métodos de captura una recuperación de los mismos y una disponibilidad de larvas suficientes para potenciar el desarrollo de la producción de moluscos a través de la acuicultura.

Europa, Japón y E.U.A. son los primeros productores de moluscos bivalvos entre los que destacan los cultivos de almejas, ostras y mejillones.

Las especies de moluscos bivalvos más cultivadas en las costas americanas y del Pacífico son:

Crassostrea virginica

Ostrea lurida

Ostrea chilensis

Mercenaria mercenaria

Tapes japonica

Mya arenaria

Spisula solidissima

Argepecten irradians

Los moluscos bivalvos tienen el cuerpo lateralmente comprimido y encerrado en una concha rígida calcárea, la cual está formada por dos piezas llamadas valvas, que pueden abrirse y cerrarse mediante el juego de una articulación llamada charnela y de un ligamento elástico (3, 12, 15).

Una de las características que permite que se haga énfasis en el estudio de éste grupo, desde el punto de vista epidemiológico, es que son organismos que obtienen su alimento por medio de filtración y de esta forma acumulan microorganismos patógenos, como *Achromobacter sp.*, *Aeromonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Vibrio sp.*, *Salmonella sp.*, biotoxinas marinas, entre otros, que no se inactivan durante el proceso digestivo; con el resultado de que un molusco puede acumular en sus branquias superficiales y en su tracto digestivo de 6.5 a 8.5 veces más la cantidad de bacterias que las que hay en el agua, como consecuencia de la filtración de grandes volúmenes de esta (6, 15, 26).

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) de origen microbiano y parasitario, son las causadas por el consumo de agua o comida contaminada por microorganismos patógenos, parásitos o sus toxinas. La contaminación de los alimentos puede ser endógena, o bien ocurrir en algún punto de su transformación. Por tanto, el agente etiológico debe existir en los animales, vegetales o ambiente donde se almacena, maneja y procesa el alimento (27).

El agua constituye un elemento del ambiente que necesita ser controlada en el orden sanitario prioritariamente, ya que es portadora con bastante frecuencia de bacterias intestinales patógenas como *Salmonella typhi*, *S. paratyphi*, *V. cholerae*; estos microorganismos son capaces de sobrevivir en el agua - para el caso de *Salmonella sp* son 120 días - por períodos largos, lo cual implica a menudo un riesgo grave de infección (23).

La mayoría de las enfermedades gastrointestinales relacionadas con mariscos se asocia al consumo de moluscos bivalvos, cuyo principal riesgo es la ingestión en estado crudo, por ésta razón son considerados como transmisores de agentes patógenos (4, 6, 15, 26, 30).

La bioacumulación de microorganismos patógenos en los bivalvos está en relación directa con la temperatura del agua, por esta razón se observan variaciones en la población bacteriana, siendo más alta en verano que en invierno, debido a que la actividad fisiológica de los bivalvos disminuye, no se alimentan cuando la temperatura es de 2° C y la salinidad está por debajo del 4 % (6, 10, 15, 38).

La caracterización de microorganismos enteropatógenos por medio de la identificación de serotipos, es un procedimiento de gran utilidad en estudios epidemiológicos puesto que permite el seguimiento de brotes de intoxicaciones alimentarias u otro tipo de infecciones producidas por *Shigella* sp, *E. coli*, *Campylobacter* sp ó *Salmonella* sp (19). La serotipificación nos da a conocer factores como la fuente de infección, el lugar de procedencia o las dimensiones del brote y de esta manera se pueden aplicar medidas preventivas y de control.

Actualmente la presentación de antígenos es uno de los fenómenos biológicos de mayor interés , debido a que es la base de la respuesta inmunocelular (11).

Es importante tener en cuenta que la aglutinación y precipitación son dos fenómenos diferentes , la primera es la reacción antígeno-anticuerpo en la cual un antígeno sólido o en partículas forma un cristal con un anticuerpo soluble y en el segundo caso consiste de una reacción entre un antígeno y un anticuerpo soluble, en la cual se forma una malla compleja de conjuntos entrelazados. La aglutinación es uno de los métodos más antiguos para demostrar que se está

llevando a cabo una reacción inmune in vitro (11, 34). Las reacciones de precipitación son medibles en cantidades y son fáciles de ejecutar, las técnicas de aglutinación son sólo semicuantitativas y algo más complejas.

La aglutinación de los antígenos nativos insolubles o de las partículas recubiertas por el antígeno puede evaluarse a simple vista con o sin la ayuda del microscopio. Ventajas importantes de las reacciones de aglutinación son su alto grado de sensibilidad y enorme variedad de sustancias identificables a través del uso de partículas que están recubiertas por antígeno o por anticuerpo.

Los tres requerimientos principales en las pruebas de aglutinación son la disponibilidad de una suspensión estable de células o de partículas, la presencia de uno o más antígenos cercanos a la superficie y el conocimiento de que los anticuerpos "incompletos" o no aglutinables no son localizables sin modificación.

Las bacterias, los hongos y otras diversas especies de microorganismos pueden ser aglutinados directamente por los anticuerpos séricos. Las pruebas para identificar anticuerpos específicos son llevadas a cabo titulando seriadamente antisueros en diluciones al doble en presencia de una cantidad constante de antígeno (34).

La familia Enterobacteriaceae, comúnmente conocidas como microorganismos entéricos, abarcan un gran número de bacterias que causan enfermedades gastrointestinales. Los miembros de esta, son primordialmente móviles, aunque algunas cepas no lo son (*Shigella* y *Klebsiella*). Las especies móviles poseen flagelos peritricos y algunas especies poseen fimbrias o pelos; fermentan la glucosa; se encuentran formas aerógenas y anaerógenas y reducen los nitratos a nitritos (25).

El género *Salmonella* pertenece a ésta gran familia, es un bacilo Gram-negativo, anaerobio facultativo, no esporulado, móvil mediante flagelos peritricos (excepto *S. gallinarum* y *S. pullorum*), con dimensiones de 2 a 3 micras de largo y 0.6 a 0.8 micras de diámetro; fermenta la glucosa pero no la lactosa, ni la

sacarosa, generalmente produce gas y ácido sulfhídrico en agar TSI, excepto los serotipos: *S. typhi*, *S. paratyphi*, *S. choleraesuis*, *S. sendai*, *S. abortusequi*, *S. gallinarum* y *S. herta*. Es catalasa positiva y oxidasa negativa; reduce los nitratos a nitritos. La temperatura óptima de crecimiento es de 33° C y puede hacerlo en un intervalo de 6.7° C a 45.6° C; el pH óptimo de crecimiento es de 6.5 a 7.5. Con una actividad de agua óptima de 0.99 (aw) (7, 9, 13, 16, 21, 22).

La estructura antigénica de *Salmonella* sp fué estudiada en gran detalle por Kaufmann en Dinamarca en 1937 y por White en Inglaterra en 1926 (7). Las salmonelas se diferencian entre sí por la expresión de múltiples antígenos, representados por números y letras, así los antígenos somáticos (O) se encuentran numerados del 1 al 65, los flagelares (H) que se encuentran sólo en bacterias móviles en donde hay 2 fases, la 1a. se denomina por letras de la A a la Z desglosadas éstas últimas en Z1 a la Z59, los de la 2a. fase se les asignaban un número, sin embargo, ahora comprende muchas expresiones de la 1a. y esto debido a reacciones cruzadas; y los capsulares o de virulencia (K) que se denominan con Vi (25).

La importancia del género radica en que causa la salmonelosis, la cual es una enfermedad transmisible, produciendo infecciones en el hombre, en diversas especies de animales domésticos y salvajes, es el hábitat de éste microorganismo, el conducto intestinal y tejidos de animales infectados (23).

La salmonelosis se manifiesta en el hombre de las siguiente manera:

1. GASTROENTERITIS, es la forma más común de la enfermedad y cuyo cuadro clínico varía desde las infecciones muy leves hasta cuadros muy severos que pueden ser mortales y que generalmente se presentan con diarrea; náuseas, vómito, sensación de malestar intenso, cefalea y fiebre

ocasional. Es autolimitada y la causa cualquiera de los serotipos de *Salmonella*, algunos de ellos con mayor frecuencia que otros, y tiene un período de incubación de 6 - 14 hrs.

2. SEPTICEMIA, seguida por infecciones localizadas que son producidas por cualquiera de los muchos serotipos de las otras salmonelas.

La Fiebre Tifoidea o Fiebre Entérica es causada por *Salmonella typhi*, se adquiere mediante la ingestión de alimentos o agua contaminados, no existen reservorios animales y la principal fuente de infección son los portadores asintomáticos. El cuadro clínico se caracteriza por fiebre, cefalea, malestar general, diarrea o constipación, en ocasiones puede haber exantema, desorientación y estado toxoinfeccioso; el padecimiento puede complicarse con perforación intestinal o choque séptico que puede llevar a la muerte (8).

Los tipos de alimentos cuyo consumo ha dado lugar a la producción de salmonelosis son muy numerosos, los más frecuentemente involucrados son las carnes, aves, mariscos, huevo y sus derivados, especialmente si se han mantenido durante mucho tiempo a temperatura ambiente (1, 4, 9, 22).

La probabilidad de que al consumir un alimento que contiene *Salmonella* spp se padezca una infección depende de numerosas circunstancias, entre las que se encuentra la susceptibilidad del consumidor; se ha observado mayor daño en los extremos de la vida (niños menores de 5 años y adultos mayores de 60) que constituyen los grupos más vulnerables a la enfermedad, la eficacia de la especie de que se trate o de la cepa particular y el número de microorganismos ingeridos (dosis infectiva 10^5 a 10^6 por gramo de alimento); sin embargo, en años recientes se ha demostrado que basta una concentración entre 3 y 10 células por gramo de alimento es suficiente para causar daño (9, 13, 20, 22).

Las salmonelas tienen una clara predilección por los sujetos con hipoclorhidria, es decir, individuos con un nivel bajo o nulo de acidez en el estómago o en aquellos que presenten situaciones de inmunodepresión (14, 22, 25).

Los mecanismos patogénicos de *Salmonella* aún no se han dilucidado, pero se acepta que no producen exotoxinas. En la infección se producen dos alteraciones gastrointestinales que aumentan la secreción de líquidos y el desarrollo de lesiones en el epitelio intestinal, es decir diarrea que algunas veces se acompaña de leucocitos.

Las salmonelas son captadas por las células epiteliales intestinales, se desplazan hacia la membrana basal sin multiplicarse y son liberadas hacia la lamina propia, donde se multiplican , induciendo a la secreción de líquidos por medio de mecanismos aún inciertos. Las células epiteliales intestinales no constituyen su hábitat para el crecimiento y la multiplicación sino una barrera que debe ser atravesada y, durante el pasaje inicial, las células intestinales aparentemente no son lesionadas (25).

Sin embargo, dado que estos microorganismos no están adaptados en una forma específica para sobrevivir dentro del ambiente intracelular de las vesículas fagocíticas, son eliminados por fagocitosis y por lo tanto la diarrea es autolimitada (13, 25).

Diversos investigadores han presentado evidencias que *Salmonella* produce una molécula similar a la toxina colérica; de este modo la respuesta inflamatoria consecutiva a la invasión bacteriana se produce por la liberación de prostaglandinas que estimulan la producción del adenosina 3-5 monofosfato cíclico (AMPc) que inhibe la absorción de sodio y potasio y aumenta la secreción

Las salmonelas tienen una clara predilección por los sujetos con hipoclorhidria, es decir, individuos con un nivel bajo o nulo de acidez en el estómago o en aquellos que presenten situaciones de inmunodepresión (14, 22, 25).

Los mecanismos patogénicos de *Salmonella* aún no se han dilucidado, pero se acepta que no producen exotoxinas. En la infección se producen dos alteraciones gastrointestinales que aumentan la secreción de líquidos y el desarrollo de lesiones en el epitelio intestinal, es decir diarrea que algunas veces se acompaña de leucocitosis.

Las salmonelas son captadas por las células epiteliales intestinales, se desplazan hacia la membrana basal sin multiplicarse y son liberadas hacia la lamina propia, donde se multiplican , induciendo a la secreción de líquidos por medio de mecanismos aún inciertos. Las células epiteliales intestinales no constituyen su hábitat para el crecimiento y la multiplicación sino una barrera que debe ser atravesada y, durante el pasaje inicial, las células intestinales aparentemente no son lesionadas (25).

Sin embargo, dado que estos microorganismos no están adaptados en una forma específica para sobrevivir dentro del ambiente intracelular de las vesículas fagocíticas, son eliminados por fagocitosis y por lo tanto la diarrea es autolimitada (13, 25).

Diversos investigadores han presentado evidencias que *Salmonella* produce una molécula similar a la toxina colérica; de este modo la respuesta inflamatoria consecutiva a la invasión bacteriana se produce por la liberación de prostaglandinas que estimulan la producción del adenosina 3-5 monofosfato cíclico (AMPc) que inhibe la absorción de sodio y potasio y aumenta la secreción

de cloro, bicarbonato y agua. En relación con el desarrollo de lesiones en el epitelio intestinal se sabe que la infección por *Salmonella* está localizada en el ileon terminal y el colon, la cual se inicia con una invasión bacteriana de la mucosa, etapa que es crucial en el establecimiento de la infección (13, 28).

La fiebre tifoidea y la salmonelosis se encuentran distribuidas en todo el mundo, variando su frecuencia de un país a otro, adquiriendo importancia relevante en áreas que no han alcanzado las condiciones de saneamiento e higiene, ni cuentan con medidas de salud pública óptimas, esto es común en países en vías de desarrollo como México, en donde las diarreas constituyen una de las causas principales de mortalidad y morbilidad en la población (4, 7, 20, 27).

Existe una incidencia estacional de la enfermedad, así el canal endémico registra aumento de casos a partir del mes de Mayo, alcanza sus máximo en Julio y Agosto y la declinación se observa a partir de Septiembre (2, 20, 26, 32).

Los casos de notificación semanal por entidad federativa de Salmonelosis se observan en la Tabla I .

La clasificación de las salmonelas es compleja y ha tenido cambios. Hasta 1983 se consideraban únicamente tres especies primarias o principales : *S. typhi* , *S. choleraesuis* y *S. enteritidis* que agrupaban a más de 2000 serotipos. En 1984, Bergey propuso designar un género mayor y 5 subgéneros adicionales, distinguidos principalmente en el porcentaje de similitud en pruebas de hibridación del Acido Desoxirribonucleico (ADN). En 1985, Farmer en el CDC (Center of Disease Control)clasificó a las salmonelas en un solo género con 6 especies y 6 subgrupos, basados en sus características fenotípicas y en estudios de hibridación del Acido Desoxirribonucleico (ADN). En 1986, Ewing propuso una nueva nomenclatura con 6 grupos fenotípicos dentro de una sola tribu *Salmonellae*, apoyada en pruebas bioquímicas (Tabla II)(13).

TABLA I. Casos de notificación semanal por entidad federaliva de Salmonelosis

Entidad	1994	1995
Aguascalientes	494	591
Baja California	563	61
Baja California Sur	123	72
Campeche	533	298
Coahuila	2870	2238
Colima	156	118
Chiapas	4403	1275
Chihuahua	1795	496
Distrito Federal	390	98
Durango	284	237
Guanajuato	3396	357
Guerrero	517	1732
Hidalgo	498	246
Jalisco	3523	2334
Michoacán	1841	1340
Morelos	583	432
Nayarit	1286	1071
Nuevo León	2791	552
Oaxaca	967	349
Puebla	1250	572
Querétaro	582	47
Quintana Roo	871	1272
San Luis Potosí	436	291
Sinaloa	2262	231
Sonora	260	546
Tabasco	2363	2755
Tamaulipas	2618	1819
Tlaxcala	349	283
Veracruz	2012	1553
Yucatán	339	168
Zacatecas	814	82
TOTAL	45276	24252

Fuente: Dirección General de Epidemiología/ SSA

Tabla II Clasificación del género *Salmonella* spp

EWING Y EDWARDS	C D C	FARMER
Tribu III SALMONELLEAE	Género III: <i>Salmonella</i>	Género <i>Salmonella</i>
Género 1: <i>Salmonella</i>	Subgénero I:	Subgrupo I:
1. <i>Salmonella enterica</i> subsp <i>enterica</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
2. <i>S. enterica</i> subsp <i>salamae</i>	<i>S. hirschfeldii</i>	Subgrupo II
3a <i>S. enterica</i> subsp <i>arizonae</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. salamae</i>
3b <i>S. enterica</i> subsp <i>dianzonae</i>	<i>S. paratyphi A</i>	Subgrupo IIIa:
4. <i>S. enterica</i> subsp <i>houstenae</i>	<i>S. scholtmuelleri</i>	<i>S. dianzonae</i>
5 <i>S. enterica</i> subsp <i>bongori</i>	<i>S. typhimurium</i>	Subgrupo IIb:
	<i>S. orientidis</i>	<i>S. dianzonae</i>
	<i>S. gallinarium</i>	Subgrupo IV:
	Subgénero II:	<i>S. houstonae</i>
	<i>S. salamae</i>	Subgrupo V:
	Subgénero III:	<i>S. bongori</i>
	<i>S. arizonae</i>	
	Subgénero IV:	
	<i>S. houstonae</i>	
	Subgénero V:	
	<i>S. bongori</i>	

Tomado de KONEMAN, 1988

J U S T I F I C A C I Ó N

Los moluscos bivalvos son considerados fuente de contaminación de microorganismos patógenos , entre los que se encuentra *Salmonella* spp ; por tal motivo es importante conocer desde el punto de vista epidemiológico la incidencia de los serotipos más frecuentes para contar con datos que permitan conocer el riesgo que implica su consumo y disminuir la tasa de morbilidad de ese padecimiento.

OBJETIVOS :

- Caracterizar algunos serotipos de *Salmonella* spp presentes en Moluscos Bivalvos.
- Conocer los serotipos de *Salmonella* spp más frecuentes en Moluscos Bivalvos.
- Conocer la incidencia de serotipos de *Salmonella* spp por procedencia de Moluscos Bivalvos.

M E T O D O L O G I A

Se analizaron 240 muestras de moluscos bivalvos, las cuales consistieron de ostiones en su concha y de diferentes tipos de almejas (Anexo 3), que integran el PROGRAMA MEXICANO DE SANIDAD DE MOLUSCOS BIVALVOS (PMSMB) y que el Laboratorio Nacional de Salud Pública forma parte ; éstas fueron obtenidas de los mercados de la Viga y la Nueva Central de Abastos, en el periodo comprendido entre los meses de Julio, Agosto, Septiembre, Octubre, Noviembre y Diciembre de 1994. Su procedencia fué de los estados de Veracruz y Baja California Sur. Fueron muestreadas en condiciones asépticas en bolsas de plástico conteniendo de 15-35 piezas dependiendo el tamaño de los bivalvos, trasladadas posteriormente en un recipiente hermético con refrigerante al lugar de análisis.

El método para aislar *Salmonella spp* fué el recomendado por la Food and Drug Administration (FDA), descrita en el Manual de Bacteriología Analítica (BAM) Fig. 1

Una vez que se obtuvo la cepa de *Salmonella spp*, se procedió a su serotipificación; la metodología utilizada fué la recomendada por la U. S. Department of Health and Services, la cual consiste en lo siguiente (Fig. 2):

1. De la cepa pura de *Salmonella spp* se sembró en placa de Agar Base de Sangre (ABS) y se mantuvo a 35° C durante 24 Hrs.
2. Se aglutinó con los antisueros somáticos (O) de la siguiente forma :

- En un portaobjetos se colocó una gota del antisuero polivalente para *Salmonella spp* y una pequeña cantidad del cultivo fresco en ABS, se mezclaron con el canto de una asa; se hizo rotar el portaobjetos y antes de un minuto se observó la reacción.

Fig.1 Metodología para el aislamiento de *Salmonella* spp

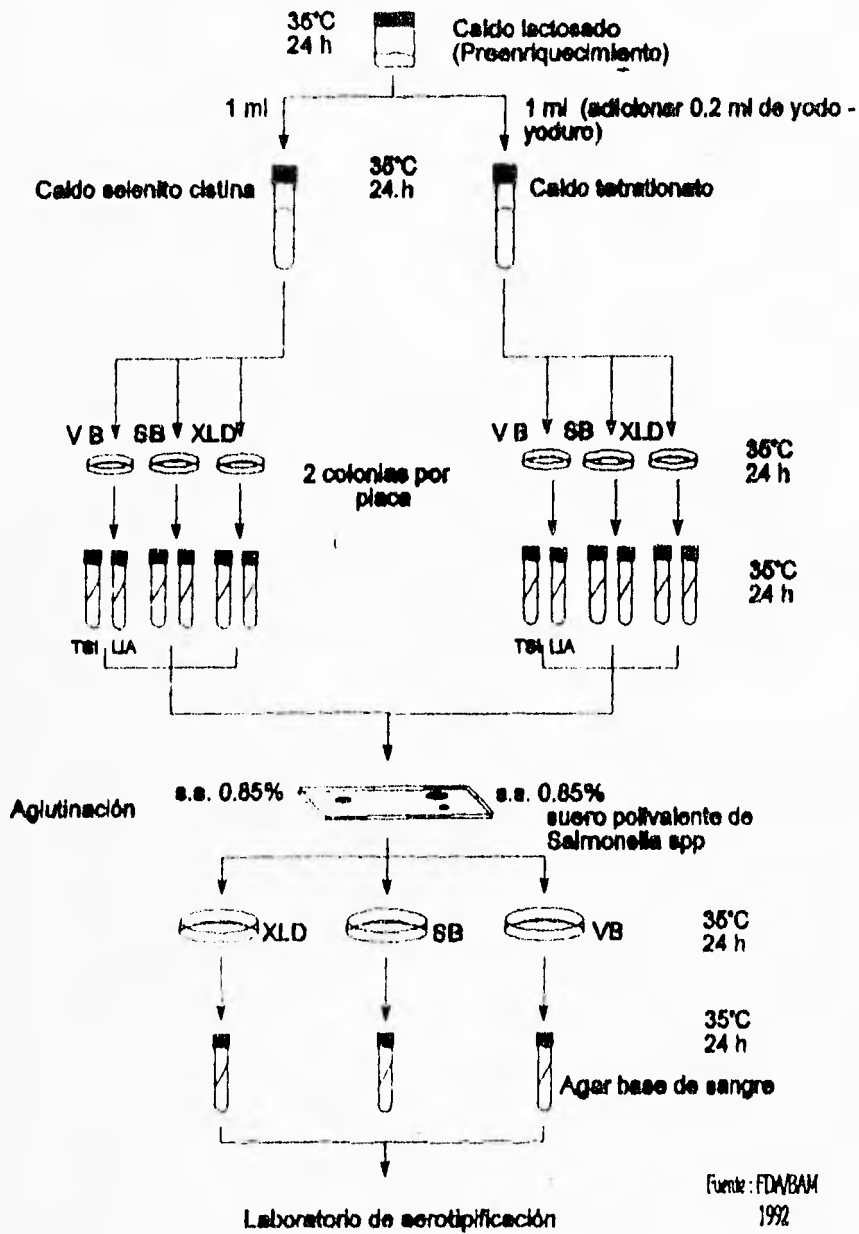
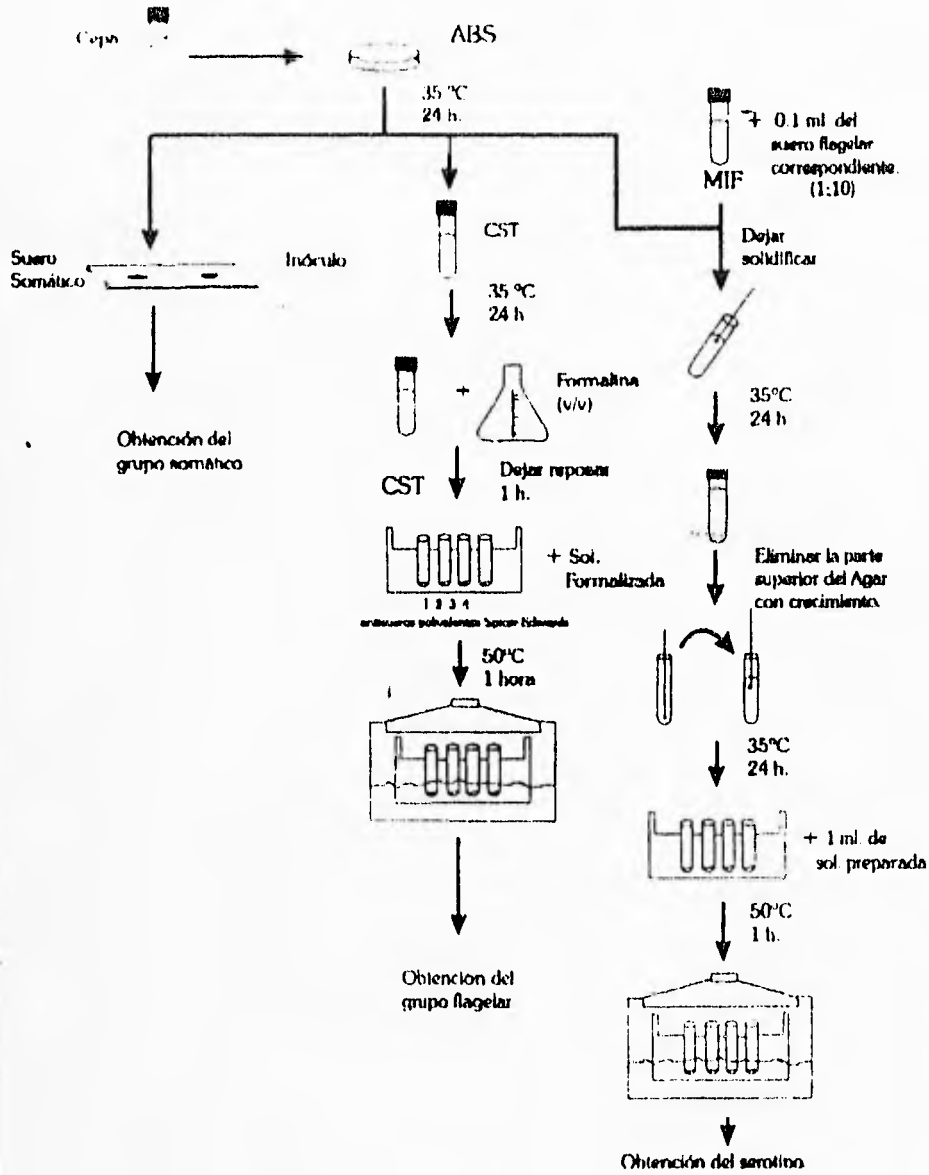


Fig 2. Metodología para la Serotipificación de *Salmonella* spp



PRUEBA NEGATIVA: ausencia de aglutinación. Sólo se observa una suspensión homogénea.

PRUEBA POSITIVA: aglutinación antes de un minuto.

3. Se inoculó a partir de las placas de ABS un tubo de Caldo Soya Tripticasa (CST) por muestra y se mantuvo a 35° C por 24 hrs.

4. Posteriormente se le adicionó al caldo soya tripticasa 10 ml de solución salina con formalina al 0.6 %, dejándolos reposar por 1 hora.

Una vez obtenido el antígeno se realizó la aglutinación con los antisueros de Spicer-Edwards, que comprenden 4 antisueros polivalentes y los complejos EN, L, 1, G. Tabla III.

5. Se colocó una serie de 4 tubos por cepa de 12 x 75 mm en una gradilla, se les adicionó 0.02 ml de cada uno de los antisueros polivalentes y 1 ml del antígeno preparado (CST c/ formalina), se mantuvieron en baño de agua a una temperatura de 50° C por una hora, se revisaron cada 15 min sin agitarlos.

La aparición de una aglutinación ligera como una nube se consideró positiva.

Cuando fué negativa la aglutinación con los 4 antisueros polivalentes, se aglutinó con los complejos EN, L, 1, G, y cuando fué positiva, se probó con los sueros que comprenden cada uno de ellos.

TABLA III. Reacciones flagelares de *Salmonella* spp con los antisueros de Spicer-Edwards

ANTIGENOS H	Antisueros Spicer-Edwards para Salmonella H (Flagelares)			
	1	2	3	4
a	+	+	+	-
b	+	+	-	+
c	+	+	-	-
d	+	-	+	+
e,h	+	-	+	-
Complejo G *	+	-	-	+
i	+	-	-	-
k	-	+	+	+
r	-	+	-	+
y	-	+	-	-
z	-	-	+	+
Complejo Z4 **	-	-	+	-
z10	-	-	-	+
z29	-	+	+	-

Antígenos H

Antisueros para Salmonella H

e, n, x ; e, n, z15;

Complejo EN

l,v ; l,w ; l,z13; l,z28;

Complejo L

1,2 ; 1,5 ; 1,6 ; 1,7 ;

Complejo 1

Para completar la aglutinación serológica, en el caso de microorganismos difásicos, fué necesario identificar la Segunda Fase, y se realizó lo siguiente :

INDUCCION DE SEGUNDA FASE

6. Se fundió el medio de inducción de fase (MIF), se dejó enfriar a temperatura ambiente, antes de que se solidificara se adicionó 0.1 ml del suero flagelar correspondiente diluido 1:10 , se agitó y se dejó solidificar.
7. Una vez solidificado el medio se inoculó con la cepa correspondiente conservada en ABS en la superficie del tubo a 3 mm de profundidad, se incubó a 35°C durante 18-24 hrs.
8. Transcurridas las 24 hrs de incubación se leyeron los tubos, de tal modo que en aquellos donde se observó un crecimiento (desplazamiento) se marcaron con una línea, se eliminó con una asa caliente la parte superior del agar con crecimiento.
9. Con una asa se transfirió una cantidad del cultivo más profundo a un tubo con Caldo Soya Trypticasa, se incubó a 35° C durante 24 hrs.
10. Se aglutinó con los antisueros específicos de la segunda fase. Tal como se realizó para la primera fase.
11. Concluida la aglutinación de la segunda fase, se procedió a buscar el serolipo en el esquema de Kaufmann-White para *Salmonella* spp y

Arizona.

R E S U L T A D O S

De las muestras 240 muestra analizadasde moluscos bivalvos, 56 (23 %) fueron positivas a *Salmonella* spp, lo cual representa la cuarta parte, aproximadamente, del total de muestras analizadas; de este porcentaje, 25 (10.4 %) fueron de almeja Casco, 14 (5.8 %) de almeja Gallo, 10 (2.4 %) de almeja Negra, 5 (2.0 %) de almeja Pata de Mula y 2 (0.8 %) de Ostión en Concha. Se pudo observar que en el mes de Julio la presencia de este microorganismo fué mayor en relación a los meses de Agosto, Septiembre, Octubre , Noviembre y Diciembre, obteniéndose un total de 13 aislamientos en ese mes. Tabla V.

Refiriéndose sólo al género *Salmonella* spp se aisló en los diferentes tipos de muestra de la siguiente forma: 2 muestras positivas de 39 totales para Ostión en Concha; 25 muestras positivas de 76 totales en almeja Casco; 5 muestras positivas de 62 totales en almeja Pata de Mula; 14 muestras positivas de 39 totales en almeja Gallo y 10 muestras positivas de 24 totales en almeja Negra. Tabla IV.

Sin embargo, es importante mencionar que en total se serotificaron 43 (18 %) cepas de *Salmonella* spp, ya que las 13 restantes fueron en su mayoría inmóviles y monofásicas, de este modo, se obtuvo lo siguiente: de las 2 cepas positivas para Ostión en Concha 1 se obtuvo su serotipo y la otra fué inmóvil ; de las 25 para almeja Casco ,17 se serotificaron; 2 de las 5 muestras positivas para almeja Pata de Mula; 14 de las 14 para almeja Gallo y 9 de las 10 para almeja Negra. Tabla IV.

Los serotipos de *Salmonella* spp en Moluscos Bivalvos varían considerablemente en relación a la aparición de nuevos serotipos en cada uno de los meses ya mencionados, así podemos advertir que en Julio sólo se presentaron 3 serotipos, siendo estos muy frecuentes en este mes. El serotipo *Agona* ocupa el primer lugar con 7. *Hato* registró 3 y *Essen* sólo 2. Tabla VI.

En Agosto se obtuvieron 4 serotipos diferentes y 1 (*Agona*) ya presente en el mes anterior. Este último fué el serotipo más frecuente en este mes, registró 3, posteriormente *Anatum* y *Typhimurium* alcanzaron 2; *Newport* y *Derby*, sólo 1. Tabla VI.

Septiembre presenta 7 serotipos distintos, *Newport* se registró nuevamente aquí; este mes obtuvo el mayor número de registros en relación a la presencia y diversidad de serotipos. *Agona* y *Typhimurium* vuelven a estar presentes, pero no son frecuentes, ya que solo hay 1 de cada uno, en tanto que *Fynis* y *Saint-Paul* tienen 2 y 1 respectivamente; *Zefenic* aparece solo con 1 registro. Tabla VI.

En el mes de Octubre se registraron 5 serotipos, los cuales ya se habían caracterizado en los meses anteriores, sólo el que es nuevo para este mes es *Zefenic* con 1, en tanto que *Typhimurium*, *Agona*, y *Saint-Paul* obtuvieron 1 cada uno y *Fynis* se presentó con 2. Tabla VI.

El serotipo *Heidelberg* es el más frecuente en el mes de Noviembre, *Essen* y *Anatum* fueron serotipos que se caracterizaron en los meses de Julio y Agosto respectivamente, en este mes disminuyó su frecuencia. Aparecen por primera vez los serotipos *Coeln* y *Stanleville*. Tabla VI.

En Diciembre no se obtuvo ningún serotipo de éste patógeno, las pocas muestras positivas de *Salmonella* spp (3) fueron inmóviles, lo cual indica que el

microorganismo tiende a disminuir en la estación invernal, dada la fisiología de los Bivalvos. Tabla VI.

Como ya se mencionó con anterioridad, la presencia de *Salmonella* spp en los moluscos bivalvos fué del 23 %, éste porcentaje es alto en relación al reportado por otros países como Cuba (4.5 %), Suroeste de Asia (16 %) y E.U.A. Florida (17.5 %)

Es evidente que el serotipo *Agona* fué el más frecuente de los 17 que se lograron caracterizar, éste registró un 25.6 %, *Heidelberg* y *Essen* obtuvieron el 9.3 % , *Anatum*, *Fyris*, *Hato* y *Typhimurium* el 7.0 % , *Newport* y *Saint-Paul* el 4.6 % y *Coeln*, *Derby*, *Enteritidis*, *Lichtfield*, *Muenchen*, *Nchonga*, *Stanlevylle* y *Zefenic*, el 2.32 % . Tabla VII.

La incidencia de *Salmonella* spp en los moluscos bivalvos por tipo de muestra y procedencia fué mayor en Alvarado, Ver., en donde la almeja casco obtuvo 23 muestras positivas para este microorganismo, en tanto que la almeja gallo, 13; la almeja negra, 10 ; ostión en concha , 1; la almeja pata de mula, no se registró en esta localidad. Así, tenemos que en La Paz, B.C.S. se obtuvieron 5 muestras positivas para almeja pata de mula; en la Laja, Ver. 1 muestra positiva en ostión en concha. Tabla VIII.

Una de las regiones con mayor incidencia de *Salmonella* spp fué Alvarado, Ver., la cual alcanzó un 84 % de positividad a este microorganismo; La Paz, Baja California Sur, registró un 9 %; el Centro de Abastos sin procedencia un 5.3 %; La Laja, Ver. un 1.8 % y Tamiahua un 0 %. Con estos datos nos podemos percatar que en nuestro país aún no se cuenta con una estricta vigilancia sanitaria, lo cual pone en riesgo la salud de la población. Tabla IX .

Tabla IV. Relación del número total de cada tipo de muestra con el resultado de positividad y serotipificaciones obtenidas de *Salmonella* spp en Julio- a Dic. de 1994

TIPO DE MUESTRA	TOTAL DE MUESTRAS	POSITIVIDAD A <i>Salmonella</i> spp	SEROTIPIFICADAS
Ostión en Concha	39	2	1
Almeja Casco	76	25	17
Almeja Pata de Mula	62	5	2
Almeja Gallo	39	14	14
Almeja Negra	24	10	9
TOTAL	240	56	43

TABLA V. Presencia de *Salmonella* spp en Moluscos Bivalvos por tipo de muestra en Julio a Dic. de 1994.

Tipo de muestra	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Total
Almeja casco	5	4	7	3	3	3	25
Almeja pata de mula	1	0	2	2	0	0	5
Almeja gallo	4	3	2	2	3	0	14
Almeja negra	3	2	1	3	1	0	10
Ostion en concha	0	1	0	0	1	0	2
TOTAL	13	10	12	10	8	3	56

Tabla VI. Serotipos de *Salmonella* spp en Moluscos Bivalvos en Julio a Dic. de 1994.

Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
<i>Agona</i> (7)	<i>Anatum</i> (2)	<i>Enteritidis</i> (1)	<i>Zeferic</i> (1)	<i>Heidelberg</i> (4)	Ninguno
<i>Hato</i> (3)	<i>Typhimurium</i> (2)	<i>Newport</i> (1)	<i>Typhimurium</i> (1)	<i>Coeln</i> (1)	
<i>Essen</i> (2)	<i>Agona</i> (3)	<i>Muenchen</i> (1)	<i>Agona</i> (1)	<i>Anatum</i> (1)	
	<i>Newport</i> (1)	<i>Fyris</i> (1)	<i>Fyris</i> (2)	<i>Stanleyville</i> (1)	
	<i>Derby</i> (1)	<i>Saint-Paul</i> (1)	<i>Sain-Paul</i> (1)	<i>Essen</i> (1)	
		<i>Nchanga</i> (1)			
		<i>Essen</i> (1)			
		<i>Litchfield</i> (1)			

Tabla. VII.. Porcentaje de Serotipos de *Salmonella* spp en Moluscos Bivalvos en Julio a Dic. de 1994.

SEROTIPO	PORCENTAJE	(C E P A S)
<i>Agona</i>	25.6 %	11
<i>Heidelberg</i>	9.3 %	4
<i>Essen</i>	9.3 %	4
<i>Anatum</i>	7.0 %	3
<i>Fyris</i>	7.0 %	3
<i>Hato</i>	7.0 %	3
<i>Typhimurium</i>	7.0 %	3
<i>Newport</i>	4.6 %	2
<i>Saint-Paul</i>	4.6 %	2
<i>Caehn</i>	2.3 %	1
<i>Derby</i>	2.3 %	1
<i>Enteritidis</i>	2.3 %	1
<i>Litchfield</i>	2.3 %	1
<i>Muenchen</i>	2.3 %	1
<i>Nchanga</i>	2.3 %	1
<i>Stanleyville</i>	2.3 %	1
<i>Zeferic</i>	2.3 %	1
TOTAL	100%	43

Tabla VIII. Incidencia de *Salmonella* spp por tipo de muestra y procedencia en Julio aDic. de 1994

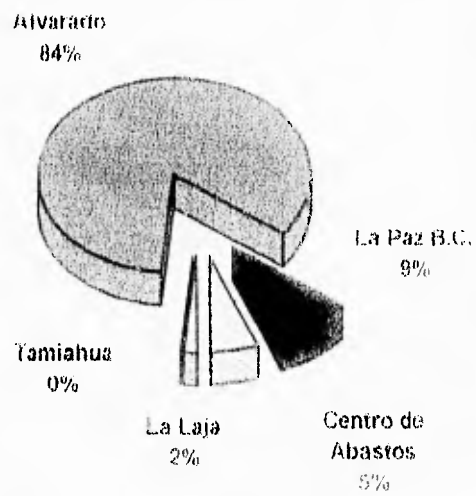
Procedencia	Tipo de Muestra	Incidencia de <i>Salmonella</i> spp
Alvarado, Ver.	Almeja Casco	23
	Almeja Gallo	13
	Almeja Negra	10
	Ostión en concha	1
La Paz, B. C. S.	Almeja Pata de Mula	5
La Laja, Ver.	Ostión en concha	1
Centro de Abastos	Almeja Gallo	1
	Almeja Casco	2

Tabla IX. Porcentaje de positividad a *Salmonella* spp por procedencia de muestra en Julio a Dic. de 1994.

Procedencia	Porcentaje de positividad de <i>Salmonella</i> spp
Alvarado, Ver.	84.0 %
La Paz, B.C.S.	9.0 %
Centro de Abastos (s/ proc)	5.3 %
La Laja, Ver.	1.8 %
Tamiabua, Ver.	0 %

s/ proc.: sin procedencia

Fig. 3. Porcentaje de positividad a *Salmonella* spp por procedencia de muestra.



D I S C U S I O N

La presencia de *Salmonella* spp en los alimentos representa un riesgo bastante alto para la población, sobre todo en productos que no sufren un adecuado proceso de cocción o no se mantienen en condiciones adecuadas de almacenamiento (4).

Este microorganismo estuvo presente durante el período establecido (seis meses) de investigación, lo cual indica que los estuarios en donde se cultivan los bivalvos son constantemente bañados con aguas residuales, produciendo un alto riesgo potencial para el consumidor; aunado a lo anterior, es conveniente mencionar que las técnicas de captura y almacenaje tienen un papel muy importante para que el microorganismo se desarrolle, puesto que si no son las adecuadas aumenta la probabilidad de contaminación del producto.

En su mayoría, las muestras que se analizaron procedieron de los estados de Veracruz y Baja California Sur, cuyas costas son bañadas por el Océano Atlántico y del Pacífico, respectivamente, en donde el aislamiento de este microorganismo , así como de algunos de sus serotipos han sido reportados, tal es el caso de Cuba, Bélgica y E.U.A. (9, 29, 39).

Al realizarse la serotipificación se encontraron 17 especies de *Salmonella* spp, de estos el que más destacó por su presencia fué *Agona* con 11 cepas , *Heidelberg* con 4 cepas, *Anatum* y *Typhimurium* con 3 cepas; estos resultados coinciden con publicaciones anteriores (4, 14, 23, 27,35), en donde se reportan a estas especies como causantes de brotes de enfermedades gastrointestinales. No obstante, que los serotipos más frecuentes fueron los ya mencionados, en esta investigación se pudieron aislar y caracterizar otras especies de este microorganismo, y esto se debe a que las especies de *Salmonella* spp

características de una localidad determinada, por lo general no están sujetas a grandes fluctuaciones durante tiempos cortos, pero puede variar la frecuencia en cuanto al número de aislamientos. Por lo que podemos observar que en regiones en donde antes no se habían aislado aparecen nuevas especies que pueden causar problemas de salud pública, lo que nos hace pensar que existan reservorios locales de este patógeno o bien que sean diseminados por portadores asintomáticos procedentes de otros lugares.

Los resultados obtenidos llaman la atención si tenemos en cuenta que todos serotipos encontrados en las muestras proceden de Alvarado, Ver., en tanto que las inmóviles y monofásicas son de las localidades de Baja California Sur, Tamiagua, Ver Laja, Ver y Centro de Abastos; ya que actualmente los requerimientos sanitarios por el Programa Mexicano de Sanidad de Moluscos Bivalvos sólo se cumplen para los bivalvos de exportación, lo cual se limita a los estados de Baja California, Sonora y Tamaulipas(30), ocasionando que en Alvarado, Ver. se registre un riesgo epidemiológico, ya que como se mencionó con anterioridad la mayoría de las especies aisladas han estado involucradas en enfermedades gastrointestinales.

Los puertos marítimos comerciales y turísticos corren el peligro de presentar un alto grado de contaminación en sus aguas, dado el arribo de muchos barcos comerciales y cuyos tripulantes pueden ser portadores de este microorganismo patógeno, dejándolo diseminado durante su estancia en dichos lugares. Un estudio realizado en Cuba (23) registró la presencia de algunos serotipos de *Salmonella* en las aguas del río Luyano, alguno de estos serotipos fueron: *Stanleyville*, *Derby*, *Anatum*, *Agona*, *Muenchen*, *Montevideo*, entre otros; esto pone en evidencia que este microorganismo está en las aguas del Océano Atlántico que bañan las costas de nuestro país, en este caso Veracruz, lo mismo que para la isla de Cuba.

Es importante mencionar que el tipo de muestra con mayor incidencia de *Salmonella* spp fué la almeja Casco, sin embargo en publicaciones anteriores (9,30) se reporta que se aisla más este microorganismo en ostiones.

Se dice en la bibliografía que las salmonelas causan mayor daño en los grupos de personas menores de 5 años y en las mayores a 60 , sin embargo en los registros de casos notificados por la Dirección General de Epidemiología / SSA, se observa que el grupo de edad más afectado es el de 25 a 44 años (1992-1994), estos datos son más lógicos de pensarse, dado que este grupo es el que más activo está dentro de la población laboral; no obstante, no podemos descartar totalmente la idea de que los menores de cinco años no son susceptibles de contraer enfermedades gastrointestinales y esto se debe a sus hábitos alimenticios.

Es importante desde el punto de vista epidemiológico conocer los serotipos presentes en una localidad para poder en un momento determinado ayudar a disminuir la tasa de morbilidad debido a este padecimiento.

Estos datos son una pequeña muestra de como en nuestro país las enfermedades gastrointestinales siguen siendo un problema de salud pública, que para reducirlas se tienen que tomar medidas encaminadas a obtener un beneficio real del mejoramiento de los servicios públicos, tales como servicio de drenaje, provisión de agua potable, entre otros, así como adquirir hábitos higiénicos y sanitarios adecuados. Sin embargo esto no podrá ser posible si no se lleva a cabo un cambio en la estructura social que aumente el nivel de vida de la población.

C O N C L U S I O N E S

1. De los Moluscos Bivalvos se logró aislar *Salmonella* spp, en 56 muestras (23%), se serotipificaron 43; obteniéndose 17 serotipos diferentes.
2. El serotipo más frecuente fué *Agona*, este se ha reportado como patógeno para el hombre, por lo que es de suma importancia cuidar el aspecto epidemiológico del género.
3. Alvarado, Ver. es la zona con mayor incidencia de *Salmonella* spp, registró un 84 %.Pues la regulación sanitaria está más enfocada a los bivalvos procedentes de los estados de Baja California, Sonora y Tamaulipas los cuales se destinan a la exportación.
4. El bivalvo con mayor incidencia de *Salmonella* spp fué la almeja Casco, con 10%.
5. Dada la presencia de este microorganismo en los Moluscos Bivalvos, se les considera un producto de alto riesgo para la salud, si estos son ingeridos crudos o inadecuadamente cocidos. Convirtiendose también en una fuente de contaminación cruzada para otros alimentos.

A N E X O 1

PREPARACION DE MEDIOS Y REACTIVOS

Agar Base de Sangre (A B S)

Infusión de músculo cardíaco. 375 g

Peptona de carne. 10 g

Agar. 15 g

Cloruro de Sodio. 5 g

Agua Destilada. 1000 ml

Pesar los ingredientes sólidos y depositarlos sobre una cámara de agua hasta disolver, dejar reposar durante 15 min. y disolver a baño maría. Ajustar el ph a 7.3 ± 0.2 . Distribuir en matraces. Esterilizar a 121° C durante 15 min. Enfriar a 45°-50° C y añadir de 5 a 10 % de sangre desfibrinada estéril, homogenizar y vaciar en cajas Petri.

Caldo Soya Trypticasa (C S T)

Triptosa.	10.4 g
Tripticasa o Triptona.	8.5 g
Extracto de levadura.	3.0 g
Cloruro de Sodio.	5.0 g
Fitona o Soytona.	1.5 g
Glucosa.	1.8 g
Fosfato Dipotásico.	1.25 g
Agua Destilada.	1,000 ml

Disolver los ingredientes en un litro de agua. Distribuir 5 ml en tubos de 16 x 150 mm. Esterilizar a 121° C durante 15 min. Ajustar al pH a 7.2 ± 0.2

Medio para Ensayo de Movilidad

Extracto de Levadura 3 g

Peptona. 10 g

Cloruro de Sodio. 5 g

Agar. 4 g

Agua Destilada. 1000 ml

Disolver los ingredientes en el agua mediante calentamiento a ebullición con agitación. Distribuir 8 ml por tubo, esterilizar a 121° C por 15 min. Ajustar el pH a 7.4

Agar de Inducción de Fase

Extracto de Carne. 0.3 g

Peptona. 1.0 g

Gelatina. 80 g

Cloruro de Sodio. 5 g

Agar. 4 g

Agua destilada. 1000 ml

Pesar los ingredientes sólidos y depositarlos sobre una cámara de agua hasta disolverlos, dejar reposar 15 min. y disolver a baño maría. Distribuir en tubos de 3 ml. Esterilizar a 10 lb de presión durante 15 min.

Solución Salina Fisiológica (0.85 %)

Cloruro de Sodio..... 8.5 g

Agua Destilada..... 1000 ml

Disolver y distribuir en tubos. Esterilizar a 121° C durante 20 min.

Solución de Formalina

Formaldehído HCHO (36% - 38%)..... 6 ml

Cloruro de Sodio..... 8.5 g

Agua Dstilada..... 1000 ml

Disolver 8.5 g de Cloruro de Sodio en 1000 ml de agua destilada. Esterilizar 15 min. a 121 ° C, dejar enfriar a temperatura ambiente, adicionar 6 ml del formaldehído HCHO en solución. No esterilizar despues de haber adicionado el formaldehído.

M E D I O S Y R E A C T I V O S

- Agar Base de Sangre (ABS)
- Caldo Soya Tripticasa (CST)
- Medio semisólido para ensayo de movilidad
- Medio de Inducción de Fase
- Solución salina al 0.85 %
- Antisuero polivalente para *Salmonella* spp
- Antisueros somáticos (O) de grupo para *Salmonella* spp: A, B, C, C2, C3, D1, D2, E1, E2, E3, F, G, H, I.
- Antisueros flagelares (H) de Spicer-Edwards
- Formalina al 6 %
- Agua destilada estéril
- Cloruro de Sodio (NaCl)

ESTA TESTA NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

A N E X O 2

Abreviaturas

C D C	Center of Disease Control
F D A	Food and Drug Administration
V B	Agar Verde Brillante
S B	Agar Sulfito de Bismuto
X L D	Agar Xilosa- Lisina-Desoxicolato
T S I	Agar de Tres Azúcares y Hierro
L I A	Agar de Hierro y Lisina
M I F	Medio de inducción de Fase
A B S	Agar Base de Sangre
C S T	Caldo Soya Triplicasa

A N E X O 3

F O T O G R A F I A S

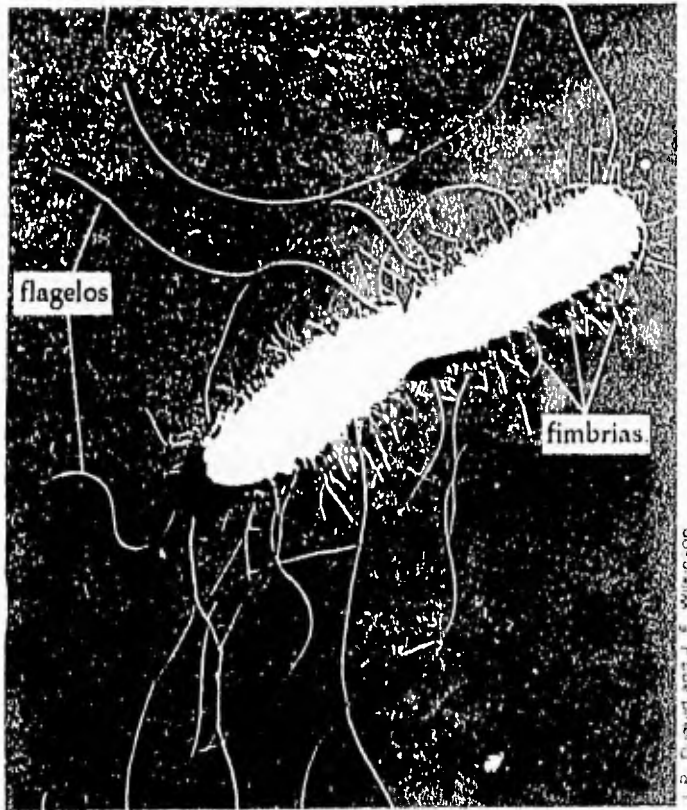


Figura 3.53 Micrografía electrónica de una célula completa con sombreado metálico de *Salmonella typhi* mostrando los flagelos y las fimbrias. Cada célula tiene un diámetro de 0,9 μm aproximadamente.

Almeja Gallo



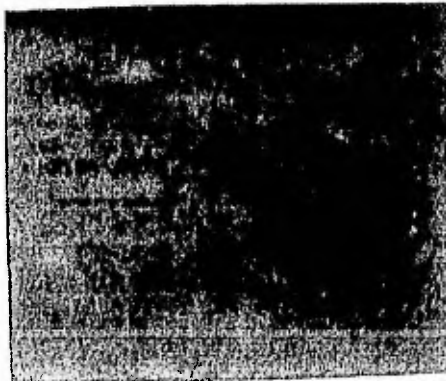
Almeja Gallo



Almeja Negra



Almeja Pata
de Mula

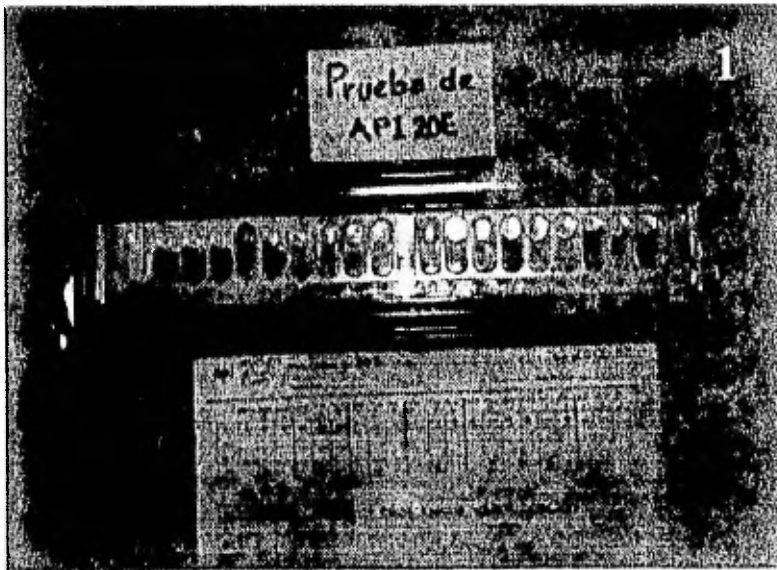


PRUEBAS BIOQUIMICAS
PARA LA DETERMINACION

DE *Salmonella* spp.

(1) API 20E

(2) TSI y LIA



P R U E B A S D E A G L U T I N A C I O N

S O M A T I C A (1) Y F L A G E L A R (2)

P A R A *Salmonella* spp.



B I B L I O G R A F I A

1. Asten, A.J.A.M. , Zwaagstra, K.A. , Baray M.F. , Kusters J.G., Huis J.H.J., and Zeijst B.A.M. 1995. Identification of the domain which determines the g,m serotype of the flegellin of Salmonella enteritidis. *J. Bacteriology*. 177 (8) : 1610 - 1613.
2. Baird-Parker, A.C. 1994. Foods and Microbiological risks. *Microbiology* . 140, 687-695.
3. Bautista Parejo, C. 1989. MOLUSCOS: Tecnología del Cultivo. España. 167 págs.
4. Bello-Pérez, L.A. Serotipos de Salmonella spp identificados en chorizos que se expenden en Acapulco, Guerrero, México. *Rev. Lat-Amer. Microbiol.* 35:377-381,1993.
5. Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé. 1995. Lette contre la salmonellose animale et prevention des toxi-infections al imentaires. 73 (1): 11-13.

6. Burkhard III; Watkins William D. and Rippey S. R. 1992. Seasonal effects on accumulation of microbial indicator organisms by *Mercenaria mercenaria*. Appl. Environ. Microbiol. 58 (3): 826-831.
7. Carlos ,Reyes X.S.1993. Aislamiento de *Salmonella* spp en carnes crudas. Tesis; Q.B.P., E.N.C.B., I.P.N., México, D.F.
8. Castillo-Ayala , A. ; Salas-Ubiarco, M.A. ; Márquez-Padilla, M.L. & Osorio-Hernández, M.D. 1993. Incidencia de *Campylobacter* spp. y *Salmonella* spp. en pollo crudo y rostizado en Guadalajara, México. Rev. Lat-amer. Microbiol. 35: 371-375.
9. Castro A. ; González I. Espeleta C. & Carrera J. 1990. Presencia de *Salmonella* en ostiones , Cuba 1985-1988. Rev. Cub. Hig.Epid. 28 (1) :88-93.
10. Castro Martínez, C. 1994. Determinación de la presencia de *Vibrio cholerae* en Moluscos Bivalvos. Tesis; Q.B.P., E.N.C.B., I. P. N., México, D.F.
11. Correa Beltrán, M.D. 1992. La presencia de antígenos Ciencia. 43 : 223-244.
12. Cleveland P. Hickman, Jr.; Roberts, L.S. & Larson, A. 1993. Integrates principles of Zoology. E. U. A. 983 págs.
13. Diagnóstico de Laboratorio de Infecciones Gastrointestinales. INDRE. S.S.A. México. 1993-1994.
14. Chalker Richard, B. and Blaser Martin, J. 1988. A review of human Salmonellosis: III. Magnitude of *Salmonella* infection in the United States. Rev. Inf. Dis. 10 (1): 111-123.

15. Donn, R.W. & Cameron Hackney. 1991. Microbiology of Marine Food Products. Canadá. 450 págs.
16. Ewing, W.H. 1982. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Services. Center for Disease Control.
17. Eyles, M.J. & Davey, G.R. 1988. *Vibrio cholerae* and enteric bacteria in oysters-producing areas of two urban estuaries in Australia. Int. J. Food Microbiol. 6, 207-218.
18. Garcla, J.A.; Paniagua, J. ; Pelayo, R. ; Isibasi A. & Kumate, J. Factores de virulencia de *Salmonella typhi* en relación al desarrollo de nuevas vacunas. Salud Pública Méx. 34: 262-267.
19. González-Bonilla, C. ; Reyes-Maldonado, E. ; Herrera-Bautista, M. C. & Britt, L. 1989. Producción de antisueros para tipificación de microorganismos enteropatógenos en el INDRE. Rev. Lat-amer. Microbiol. 31: 187-190.
20. Ixta-Rodríguez, O. ; Lugo de la Fuente, G. ; Rodríguez-Garcla, G & Barrios-Pompa, M. 1993. Frecuencia de parásitos intestinales y bacterias productoras de diarreas en niños de un hospital de zona. Rev. Lat-amer. Microbiol. 35: 137-142.
21. Koneman Emer, W.; Allen S.D. et . al. 1983. Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas, Argentina. 533 págs.
22. Kenneth, S. W. & Adel A.F. Mahmoud. 1990. Tropical and Geographical Medicine. McGraw-Hill. Book Company. USA..

23. Milord, R.D. ; González, G.I. ; Rodríguez T.M. ; Rojas, T.T.; Guerra A.T.; Martínez, I. & González, R. 1985. Estudio de la presencia y comportamiento de las salmonellas en el río Luyano. Rev. Cub. Hig. Epid., 23: 343-362.
24. McWhorter, A.C. and Fife-Asbury, A.M. Modified Kauffmann-White Schema for *Salmonella* and Arizona
25. Moselio, S.; Medoff, G. and Guerra, H. 1994. Mecanismos de las enfermedades infecciosas: enfoque mediante resolución de problemas (EN SU: MICROBIOLOGIA. De. Médica Panamericana. 2a. Edición. Argentina).
26. Olafsen, A.J.; Mikkelsen, V.H.; Glaever, M.H. and Hansen, H.G. 1993. Indigenous bacteria in hemolymph and tissues of marine bivalves at low temperatures. Appl. Environ. Microbiol. 59 (6):
27. Parrilla-Cerrillo, M.C.; Vázquez-Castellanos, J.L.; Saldade-Caslañeda, O.E. y Nava-Fernández, L.M. Brotes de toxiinfecciones alimentarias de origen microbiano y parasitario. Salud Pública México. 1993. 35: 456-463.
28. Polotsky, Yu.; Dragunsky E. and Khavkin Th. 1994. Morpologic evaluation of the pathogenesis of bacterial enteric infections. Critical Rev. Microbiol. 20 (3): 161-208.
29. Pohl, P.; Lintermans, P.; Marin, M. and Coulurier, M. 1991. Epidemiological study of *Salmonella enteritidis* strains of animal origin in Belgium. Epidemiol. Infect. 106: 11-16.
30. Robles, E. 1994. Contaminación de Moluscos. Información Científica Y tecnológica. 16(217) 94:39-41.

31. Rodrigue, D.C.; Tauxe, R.V. and Rowe, B. 1990. International increase in Salmonella enteritidis: A new Pandemic?. Epidemiol. Infect. 105: 21-27.
32. Reilly, P.J.A. and Twiddy, D.R. 1992. Salmonella and V. cholerae in brackishwater cultured tropical prawns. Int. J. Food Microbiol. 16:293-301.
33. St. Louis, M.E. et. al. 1988. The emergence of Grade A eggs as a major source of Salmonella enteritidis infections. JAMA. 259 (14): 2103-2107.
34. Stites, D.P.; Stobo, J.D.; Vivian, W.J. 1988. INMUNOLOGIA BASICA Y CLINICA. De. El Manual Moderno, S.A. México, D.F. 756 págs.
35. Timoney, F.J. and Abston, A. 1984. Accumulation and elimination of *E.coli* and *Salmonella typhimurium* by hard clams in an in vitro system. Appl. Environ. Microbiol. 47 (5) : 986-988.
36. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Services. Centers for Disease Control. Salmonellae in Foods and Feeds.
37. Van Regenmortel, M.H.V. 1992. Structure of Antigens. De. CRC. Press Inc. Vol. ONE. E.U.A. 415 págs.
38. Wood, P.C. 1979. Manual de Higiene de los Moluscos. De. Acribia. España. 33-39 págs.