

DISEÑADORES
DE FRAGANCIAS
Y SABORES



MANE
FRAGANCIAS Y SABORES

Oficinas

Emilio Carranza N° 440
Col. El Retoño
C.P. 09440 México, D.F.
Tels: (52 55) 55.32.75.31

Planta

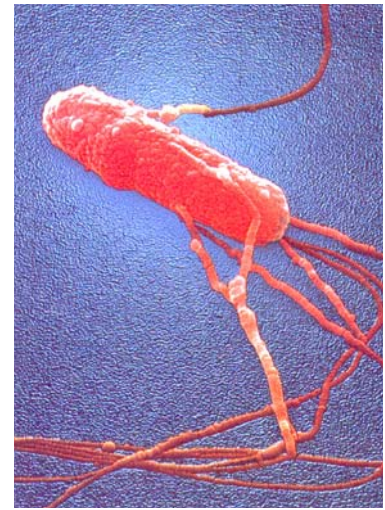
Nemesio Diez Riega N° 9
Parque Industrial El Cerrillo II
C.P. 52050 Lerma de Villada
Estado de México
Tel: 01(728) 282.27.60



Avances en el Diagnóstico Molecular de *Salmonella*

Alejandra Velilla
Dr. Horacio Terzolo
Dr. Sergio Feingold

En el período 1995-1999, *Salmonella* fue el segundo agente causal más importante (35,3%) de brotes de ETA en América Latina y el Caribe. Durante el período 1993-2002 se han registrado en Latinoamérica 48334 casos de salmonelosis



El Género *Salmonella* (S), agente etiológico de la salmonelosis, afecta a aves de corral, vacunos, porcinos y ovinos, entre otras especies. Estas bacterias, son los más frecuentes agentes causales de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs).

Incidencia, Adquisición y Modos de transmisión de Salmonella

En el período 1995-1999 fueron el segundo grupo bacteriano más importante causante de ETA en Latinoamérica y el Caribe. La carne de aves, huevos y productos derivados son alimentos que, muy frecuentemente, ocasionan brotes

de ETAs. El Género *Salmonella*, no es parte de la flora intestinal normal de las aves, sino que lo adquieren en el ambiente en que viven de insectos, roedores, aves silvestres y el hombre, así como por medio del alimento balanceado y por condiciones predisponentes cuando se crían en forma intensiva. Las salmonelas

directorio de la INDUSTRIA ALIMENTARIA

Desde 1984

- MATERIAS PRIMAS
- MAQUINARIA Y EQUIPO PARA EL PROCESO DE ALIMENTOS
- SUMINISTROS PARA ENVASE Y EMPAQUE
- SERVICIOS DE CONSULTORIA Y CONTROL DE CALIDAD
- EMPACADORES Y FABRICANTES DE ALIMENTOS

DIRECTORIOS INDUSTRIALES

- PROVEEDORES INDUSTRIA ALIMENTARIA Desde 1984
- EMPACADORES Y FABRICANTES DE ALIMENTOS Desde 1984
- ELECTRICA ELECTRONICA ILUMINACION AUTOMATIZACION Desde 1983
- METAL-MECANICA Desde 2003
- TURISTICO DE MEXICO Desde 1988

Calle 14 No. 45 Col. San Pedro de los Pinos 03800 México, D.F.
Tels. 5516-0328, 5272-9669 Fax: 5515-1870
www.dirind.com dir@dirind.com

colonizan el tracto entérico de las aves y posteriormente su materia fecal, la cual contamina la cáscara de los huevos durante su pasaje a través de la cloaca y las salmonelas depositadas en las cáscaras pueden penetrar en la albúmina o clara a través de los poros, donde permanecen latentes. Esta penetración se produce por un proceso de succión debido a la diferencia térmica existente entre el huevo recién puesto y el ambiente. Este proceso ocurre más frecuentemente en gallinas mayores de 1 año, debido a que los poros de la cáscara son de mayor tamaño. Luego, a medida que el huevo envejece, el hierro contenido en la yema difunde a la albúmina y al mismo tiempo esta clara de huevo disminuye su contenido de lisozima, permitiendo así la multiplicación de las salmonelas que estaban latentes dentro del contenido del huevo.

La materia fecal también puede contaminar a las carcasas durante el procesamiento en los peladeros de aves. Si bien la carne de las aves sanas recientemente sacrificadas es estéril, el tipo de procesamiento que se lleva a cabo en los peladeros puede influir y causar su contaminación. Las condiciones del transporte pueden alterar la flora bacteriana que coloniza el intestino y combinados con el estrés y el hacinamiento que sufren las aves se puede producir un aumento de las salmonelas justo antes de su faena. Después de la faena es muy importante mantener la cadena de frío durante todas las etapas de la comercialización. Finalmente las medidas de higiene y normas sanitarias en la cocina y los consumidores son fundamentales.

La carne de pollo y los huevos son una de las mayores fuentes de toxoinfección alimentaria en el hombre, siendo *Salmonella* uno de los principales agentes etiológicos. Datos estadísticos aportados por distintos países señalan que entre el 50 al 90% de las carcasas de pollo pueden estar contaminadas con *Salmonella*. Sin embargo, es importante destacar que mediante la aplicación de medidas preventivas en la crianza de las aves y en el procesamiento y manejo comercial de los

productos alimenticios y sus derivados, aunadas a una educación sanitaria de la población para el manejo correcto de los alimentos, para su almacenamiento y elaboración, es posible reducir considerablemente el grado de contaminación con *Salmonella*. El conocimiento y la comprensión de las principales fuentes de infección de este patógeno son importantes para el diseño de las medidas de prevención y de control de las infecciones. La epidemiología de la transmisión puede variar para cada serotipo y la importancia de las distintas fuentes de infección varía para cada uno de ellos. Sin embargo, independientemente del serotipo de *Salmonella* implicado las acciones preventivas y de control deben considerar la importancia de las transmisiones vertical y horizontal.

Salmonella en alimentos

En América Latina y el Caribe, la incidencia de las infecciones de origen alimentario produce una tasa de mortalidad por diarrea en menores de 5 años de 0.13 ‰ en Trinidad y Tobago, 0.18 ‰ en Cuba y 9.83 ‰ en Nicaragua. Debido a la falta de reportes, no se poseen datos estadísticos de muchos países de Latinoamérica.

En el período 1995-1999, *Salmonella* fue el segundo agente causal más importante (35,3%) de brotes de ETA en América Latina y el Caribe. Durante el período 1993-2002 se han registrado en Latinoamérica 1256 brotes de salmonelosis, que afectaron a 48334 personas y produjeron 15 muertes. El 29,2 % de los casos fue consecuencia del consumo de huevos o productos derivados y el 9,4 %, fue debido a la ingesta de carne de aves. El 9,8 % de los brotes fue causado por *Salmonella sv Enteritidis* y en el 85 % de los casos no se pudo determinar la serovariedad implicada (Fuente: Sistema de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos {SIRVETA}). Durante el período 1993-2002 ocurrieron en Argentina 60 brotes de salmonelosis que produjeron 889 enfermos y 4 muertos. El 6,7 % de los brotes fue causado por *S. sv Enteritidis*, 1,7 % por *S.*

Typhimurium, el 1,7% por *S. arizonae* y en el 90% de los casos no se pudo identificar la serovariedad correspondiente. Con relación a los alimentos involucrados en dichos brotes el 25% correspondió a derivados de huevo, mayonesa y carne de aves.

Un alto porcentaje de los casos notificados no puede ser asociado con algún alimento en particular o el patógeno responsable no puede ser identificado. Esto ocurre debido a que con frecuencia los resultados de los análisis bacteriológicos demoran y el alimento implicado ya no se encuentra disponible para su análisis. Por ello, la real frecuencia de los aislamientos no siempre se conoce y las publicaciones disponibles reportan muchos menos casos que los existentes. Estos datos apuntalan la necesidad de lograr la rápida detección de *Salmonella* y otros contaminantes en alimentos. Debido a esto, uno de los principales objetivos en microbiología alimentaria es la identificación del agente causal por procedimientos cada vez más rápidos y seguros. Este hecho exige realizar un control de la calidad bacteriológica de los alimentos que incluye la investigación de especies, familias o grupos bacterianos cuya presencia refleja sus condiciones higiénico-sanitarias. Asimismo, la detección del microorganismo contaminante, directamente en el alimento, prevendrá la ocurrencia de enfermedad y las consecuencias que ésta acarrea.

Nuevo Método de Detección Molecular desarrollado por el INTA de Balcarce

Debido al incremento de la prevalencia de *S. sv Enteritidis*, y su complejo ciclo de vida, la existencia de métodos de detección rápidos y efectivos son importantes como base de las estrategias de control. La técnica molecular basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés Polymerase Chain Reaction) ha revolucionado el diagnóstico molecular de las enfermedades infecciosas. A diferencia de los métodos tradicionales, que requieren 6 o 7 días para dar un resultado definitivo, por el método de PCR esto mismo se

logra en sólo 1 a 3 días, dependiendo de diversas modificaciones en el protocolo de trabajo.

La técnica de PCR, es un método rápido que posee ventajas inherentes que la caracterizan y por ende es un excelente método aplicable a la detección e identificación de *Salmonella* y de otros patógenos. Además, las cepas carentes de antígenos somáticos (O) y/o flagelares (H) (cepas rugosas), que sólo son reconocidas como *Salmonella spp.* por el método tradicional de serotipificación pueden ser identificadas mediante PCR, debido a que esta técnica detecta secuencias específicas de DNA y no es alterada por variaciones fenotípicas, que se pueden evidenciar por patrones bioquímicos.

Nueva Propuesta para el diagnóstico rápido de la Tifosis, Pulverosis y Paratifosis de las aves.

Considerando la importancia del tema y la necesidad de lograr una detección rápida de las aves infectadas, el Laboratorio de Bacteriología del Área de Producción Animal y el Laboratorio de Biotecnología Agrícola, edificio PRO-PAPA, trabajaron en forma mancomunada. Ambos laboratorios pertenecen a la Estación Experimental del INTA de Balcarce y los objetivos planteados en dicho proyecto conjunto fueron los siguientes:

- Estandarizar la técnica de PCR para su aplicación en la detección del Género *Salmonella*, de cepas virulentas (portadoras del plásmido spv, que les confiere la virulencia) y en la subtipificación molecular del sv. *Enteritidis*; y:
- Implementar un servicio de diagnóstico expeditivo y práctico para el envío de muestras a distancia sin la utilización de soportes de vidrio o medios líquidos.

Para cumplimentar estos objetivos se utilizaron 70 cepas representativas de 25 serovares de *Salmonella* y de otros 20 Géneros bacterianos y "primers" específicos del Género *Salmonella*, del serovar *Enteritidis* y del citado plásmido de viru-

lencia distintivo de algunos serovares de *Salmonella* patógenos, entre los que se encuentran, *Gallinarum*, *Enteritidis*, *Dublin*, *Typhimurium* y *Choleraesuis*.

De este modo, se podría predecir la aparición de brotes, puesto que varios estudios evidencian que este plásmido es responsable de la virulencia de las salmonelas en las enfermedades humanas y se ha comprobado que el mismo es esencial para que la bacteria produzca enfermedad sistémica en animales oralmente inoculados.

En la técnica de PCR que aquí se menciona, se incluye el mencionado "primer" específico de virulencia que identifica cepas de *Salmonella* potencialmente patógenas por ser portadoras del plásmido spv, un segundo "primer" que detecta específicamente a *S. Enteritidis* y un tercer "primer" que detecta específicamente y en general a cepas de *Salmonella spp.*

Además está implementado el sistema de diagnóstico por PCR para *Salmonella* mediante la utilización de papeles absorbentes especiales para el envío de muestras a distancia por correo postal. Una característica innovadora y práctica del servicio que brindamos, consiste en que las muestras (hisopados de materia fecal, macerados de órganos, etc.) son embebidas en papeles absorbentes que actúan como matrices de soporte. De este modo se evita la utilización de medios de cultivo en tubos o frascos, reemplazando dichos materiales por el simple despacho de un sobre conteniendo los papeles con las muestras a analizar.

Aplicaciones en la avicultura, la comercialización de sus productos y en la microbiología de los alimentos

Una aplicación importante de esta técnica es la rápida verificación y control de la salmonelosis en huevos y pollitos BB que se comercializan entre distintos países, dado que son materiales que requieren un diagnóstico rápido y preciso en las aduanas. Debido a la expansión del comercio internacional es necesario fortalecer las medidas de control sanitario

para de este modo evitar la diseminación de numerosos agentes infecciosos entre distintas regiones. Dentro del área de la microbiología de los alimentos, la técnica de PCR puede hacerse extensible a cualquier matriz de alimentos que se desee analizar, tales como muestras de leche y carne vacuna entre otras.

La importancia y la utilidad de las técnicas moleculares están evidenciada por el interés de crear en Latinoamérica una Red de sub-tipificación molecular para la vigilancia de los patógenos transmitidos por alimentos.

Asimismo, en Europa ha sido creada Enter-net, red internacional para la vigilancia de Infecciones gastrointestinales en el hombre. Esta red monitoriza fundamentalmente *Salmonella* y *Escherichia coli* O157 y uno de sus principales objetivos es establecer una base de datos internacional de casos de *Salmonella* con actualización periódica.

Otra importante Red Europea es Salm-Net, cuyo objetivo es prevenir la salmonelosis humana en la Unión Europea mediante el refuerzo de la vigilancia internacional con la creación de laboratorios y de una base de datos disponible a todos los participantes.

Salm-Net está financiada por el programa BIOMED 1 de la DG XII de la Comisión Europea y es precursora de Enter-Net. La red está compuesta por microbiólogos y epidemiólogos responsables de la vigilancia nacional de la salmonelosis en 14 países europeos. Además Salm-Net tiende a armonizar los métodos de tipificación de fagos de *Salmonella Enteritidis*, *S. Typhimurium* y *S. Virchow*.

Fuente de la información seleccionada:

Artículo del mismo nombre en E-campoArgentina. Argentina 2005.
