

VALORACION DE DOS MEDIOS DE CULTIVO Y DOS TEMPERATURAS DE INCUBACION PARA LA DETERMINACION DE SALMONELLA

A. Castro Domínguez, M. Valdés-Dapena, A. Guardia y G. Pérez

Centro Provincial de Higiene y Epidemiología, Ciudad de La Habana

Recibido: 18 de mayo de 1989

ABSTRACT. Ninety samples of fresh bird carcasses using tetrathionate Bierbrauer and Selenite Cistinta broth as enrichment media, were analyzed. Two selective media Drigalski Agar and brilliant green fenol red agar were used. Fifty seven samples were positive, it represents the 63,3 %. The superiority of incubation at 43 °C over the incubation at 37 ° for both media was demonstrated and also the superiority of tetrathionate Bierbrauer over Selenite Cistinta broth.

RESUMEN. Se analizaron 90 muestras de aves frescas utilizando medios de enriquecimiento, caldo tetratiónato Bierbrauer y caldo Selenito Cistinta. Se utilizaron dos medios selectivos Agar Drigalski y Agar verde brillante rojo fenol. Se obtuvieron 57 muestras positivas para el 63,3 %. Se comprobó la superioridad de la incubación a 43 °C sobre incubación a 37 °C para ambos medios, así como la superioridad del medio caldo tetratiónato Bierbrauer sobre el caldo Selenito Cistinta.

INTRODUCCION

La **Salmonelosis** es una enfermedad que afecta a multitud de huéspedes incluyendo mamíferos, aves, reptiles e insectos. Su efecto clínico en el hombre se presenta de dos formas, una infección intestinal y la otra infección extraintestinal.

En la infección intestinal después de un período de incubación de 6 a 48 h, se presentan diarreas, calambres, náuseas, vómitos y fiebre. Las infecciones extraintestinales pueden agruparse en fiebres entéricas, bacteriemia y septicemia e infecciones fecales especialmente, corazón, apéndice, pulmón, meninges y piel.¹

En Ciego de Avila² fueron reportados dos casos de meningocelulitis por **Salmonella D**.

El principal habitat de la **Salmonella** es el sistema intestinal de los animales y del hombre y hay ciclos de infección bien establecidos entre los animales, el hombre y el medio ambiente.

Debido a la naturaleza de la **Salmonella**, su diseminación y sus ciclos de infección, las medidas preventivas para controlar la **Salmonelosis** se deben tomar a varios niveles: en la producción de animales en el campo, el transporte, el sacrificio y elaboración y mercado.³

La Organización Mundial de la Salud recomienda desarrollar programas para reducir la incidencia de **Salmonella**, sin embargo, estos programas pueden verse afectados al no detectarse la real incidencia de **Salmonella** por efecto de factores analíticos, así como por el alto costo que representan.

La Organización Internacional de Normalización recomienda, para un mejor aislamiento, un pre-enriquecimiento, dos medios de enriquecimiento a diferentes temperaturas 43 y 37 °C, así como dos medios selectivos con subcultivos a las 24 y 48 h⁴.

Muchos investigadores, así como organizaciones internacionales han desarrollado métodos con el fin de encontrar medios más eficientes y económicos para el aislamiento de la **Salmonella**.

MATERIALES Y METODOS

Se sometieron a examen microbiológico 90 muestras de aves utilizando el método de enjuague consistente en introducir el ave en un bolsa plástica, adicionándole 500 mL de agua peptonada **bufferada** con adición de **Tween 80** al 1 X 1 000 mL como elemento detergente agitando fuertemente durante 30 s a 1 min aproximadamente. El líquido resultado de este enjuague fue trasvasado a un frasco constituyendo la muestra de laboratorio que se incubó durante 18 a 24 h a 37 °C. Posteriormente, se hizo el paso de 10 mL del caldo de pre-enriquecimiento a 90 mL de caldo tetratiónato Bierbrauer e igual cantidad a 90 mL de caldo Selenito Cistinta. Se prepararon frascos por duplicado para incubar a 37 °C y 43 °C.

RESULTADOS

En las 90 muestras analizadas se obtuvo una positividad de 57 para el 63,3 %. Los medios de enriquecimiento incubados a 43 °C (Tabla I, Fig. 1) permitieron aislamientos significativamente superiores que con la incubación a 37 °C, lo que fue demostrado mediante la prueba de X², obteniéndose los mayores aislamientos con la combinación caldo tetratiónato Bierbrauer a 43 ° y el Agar Drigalski como medio selectivo con 51 muestras positivas de un total de 57 para el 89,4 %. Asimismo, el caldo tetratiónato Bierbrauer a 43 °C y el Agar verde brillante rojo fenol ocuparon el segundo lugar con 42 muestras positivas para el 73,8 %.

TABLA I
Detección de **Salmonella** según medio de enriquecimiento y temperatura de incubación

Muestras analizadas	Total de muestras positivas	Tetratiónato (1) Muestras positivas 54				Selenito (2) Muestras positivas 32			
		37 °C		43 °C*		37 °C		43 °C*	
		D	VB	D	VB	D	VB	D	VB
90	57 (63,3)	11 (19,2)	6 (10,5)	51 (89,4)	42 (73,6)	2 (3,5)	13 (22,8)	21 (36,8)	26 (45,6)

(1) 22 muestras crecieron en tetratiónato y no en Selenito;

(2) 3 muestras crecieron en Selenito y no en tetratiónato;

*Se demostró superioridad por X²; D Drigalski; VB verde brillante

Usando la prueba estadística X² se demostró que el aislamiento en caldo tetratiónato Bierbrauer fue significativamente superior que el caldo Selenito Cistinta.

Mediante la prueba McNemar se analizó el grado de coincidencia en cuanto a la codificación de las muestras positivas y

negativas, siendo el resultado final, que dicha muestra detectó diferencias entre ambos métodos.

Todas las cepas aisladas fueron confirmadas por el Laboratorio de Referencia de Enterobacterias del Centro Provincial de Higiene y Epidemiología de Ciudad de La Habana.

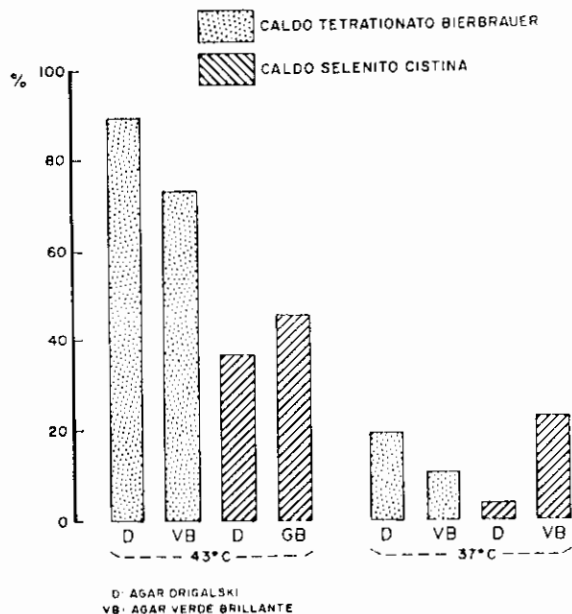


Fig. 1. Muestras de aves positivas a *Salmonella* según medios de enriquecimiento y selectivo y temperatura de incubación

DISCUSION

En este trabajo el pre-enriquecimiento se efectuó con agua peptonada bufferada a pH 7,2 con la adición de Tween 80 como elemento detergente incubando a 37 °C por un período de 18 a 24 h y en condiciones de aerobiosis.

Los mejores resultados correspondieron al caldo tetratonato Bierbrauer incubado 24 h a 43 °C y los dos medios selectivos Agar Drigalski y Agar verde brillante rojo fenol. Quedó demostrada la superioridad de la incubación a 43 °C y del caldo tetratonato Bierbrauer sobre el caldo Selenito Cistina.

D'Aout ha señalado las ventajas de utilizar sustancias tensoactivas tales como Tween 80, Tergicol 7 y Teepol 15 y refiere las ventajas del pre-enriquecimiento en relación con la siembra directa, especialmente en carnes crudas.^{5,6}

Thomason y Dood⁷ obtuvieron los mejores resultados cuando utilizaron agua peptonada bufferada seguido por enriquecimiento en caldo Tetratonato en muestras de carne cruda y de aves.

Bailey y col.,⁸ así como Kafel⁹ obtuvieron mejores resultados en condiciones de anaerobiosis en comparación con el pre-enriquecimiento en condiciones de aerobiosis y aún cuando este aspecto no fue valorado en este trabajo, se le considera como un elemento a tener en cuenta.

En el trabajo sólo tres muestras que resultaron positivas en caldo Selenito Cistina fueron negativas en caldo tetratonato Bierbrauer mientras que 22 muestras crecieron en caldo tetratonato y no en caldo Selenito, lo que indica un alto número de muestras falso-negativas.

Es evidente (Tabla I) que la incubación a 37 °C no brinda ninguna utilidad e incluso, en atención a los resultados (Fig. 1) parece innecesario utilizar un segundo medio de enriquecimiento.

Asimismo, se considera que un subcultivo adicional a las 48 h hubiera sido innecesario, aunque esta variable nunca fue valorada por los autores.

Los resultados y las consideraciones de los autores coinciden con los criterios de Kevans y col. del Laboratorio de Control Veterinario y Alimentos de Hungría donde se utiliza salvo excepciones un solo medio de enriquecimiento incubado a 43 °C y un solo subcultivo a las 24 h para la detección de *Salmonella*. Igualmente según Bocher en el Instituto Nacional de Salud Pública de Holanda se utiliza un solo medio de enriquecimiento con un subcultivo a las 24 h y un solo medio selectivo.

Se considera que en relación a los distintos métodos y medios a utilizar debe tenerse en cuenta no sólo éstos, sino que como un elemento predominante se debe mantener un adecuado aseguramiento de la calidad analítica.

CONCLUSIONES

Es necesario introducir en la práctica diaria, medios de enriquecimiento de alta sensibilidad como el tetratonato Bierbrauer y el Agar Drigalski que resultan más productivos y económicos.

La aplicación de los métodos de análisis debe ser de acuerdo con el alimento e introducir o eliminar pasos de acuerdo con la necesidad, como podría ser el subcultivo a las 48 h.

Debe establecerse el aseguramiento de la calidad analítica como tarea fundamental en los laboratorios de Microbiología.

BIBLIOGRAFIA

1. Linton A. Guidelines on prevention and control of *Salmonellosis*. WHO, 1983. VPH/83,42.
2. Suárez M. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 24, 98, 1986.
3. OMS. Criterios microbiológicos con relación a los alimentos. Informe Grupo de Trabajo FAO/OMS. Ginebra, 20-24 de febrero, 1979.
4. International Organization for Standardization. International Standard ISO 6579m. Microbiology General Guidance on Methods for the Detection of *Salmonella*. First Edition, 1981.
5. D'Aoust J. *Journal of Food Protection*, 44, 369, 1981.
6. D'Aoust J. *Journal of Food Protection*, 45, 249, 1982.
7. Thomason S. and Dodd D. *Applied and Environmental Microbiology*, 36, 627, 1978.
8. Bailey J. *Journal of Food Protection*, 47, 615, 1984.
9. Kafel S. *Journal of Protection*, 44, 268, 1981.

Teoría y práctica para la producción de Biogás

Silvio Montalvo, Enrique Sánchez y Cecilia López

Se exponen y analizan los aspectos teóricos relacionados con los procesos anaeróbicos aplicados al tratamiento de aguas residuales con vistas a la producción de biogás. Se detallan las tecnologías anaeróbicas actuales a escala de laboratorio, piloto e industrial. Se tratan aspectos tales como: antecedentes históricos y biológicos, factores físicos y químicos, cinética de los procesos anaeróbicos, tipos de reactivos y purificación de biogás. Recoge la experiencia cubana y de 15 años de trabajo de los autores.