

COMUNICACIÓN CORTA

## Aislamiento de *Salmonella* spp. a partir de huevos de gallina para consumo comercializados en la ciudad de Casilda, Santa Fe, Argentina

Freije JA<sup>1</sup>, Comba ER<sup>1</sup>, Caffer MI<sup>2</sup>, Alcain AC<sup>2</sup>, Pidone CL<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

<sup>2</sup> Servicio de Enterobacterias Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - A.N.L.I.S. "Dr. Carlos G. Malbrán".

\* Correspondencia: FCV-UNR, Av. Ovidio Lagos y Ruta 33 (2170) Casilda, Santa Fe, Argentina.  
E-mail: [cpidone@fveter.unr.edu.ar](mailto:cpidone@fveter.unr.edu.ar)

Recibido: 7 Diciembre 2018. Aceptado: 6 Junio 2019. Disponible en línea: 7 Junio 2019  
Editor: L. Frizzo

**RESUMEN.** Con el objetivo de determinar la presencia de *Salmonella* spp. en huevos destinados al consumo humano en la ciudad de Casilda, Santa Fe, Argentina, se recolectaron 125 huevos de gallina obtenidos en comercios de la ciudad y se muestrearon yemas y cáscaras. Ambas muestras se sembraron en caldo tetratiónato con el agregado de solución de yodo y verde brillante y se incubaron a 43° C durante 24 horas. De cada medio sembrado se tomó una alícuota de la superficie y se sembró en agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato, incubándose durante 24-48 horas a 37 °C. Las colonias desarrolladas se identificaron utilizando pruebas bioquímicas y aquellas identificadas como *Salmonella* spp. se serotipificaron. Se aislaron 3 cepas de *Salmonella* spp: *Salmonella* ser. Tiphymurium y *Salmonella* ser. Anatum a partir de muestras de yema y *Salmonella* ser. Anatum a partir de la cáscara de un tercer huevo. El aislamiento de *Salmonella* spp. en huevos para consumo humano refuerza la necesidad de tomar medidas de bioseguridad para reducir la incidencia de esta bacteria en las granjas.

**SUMMARY.** Isolation of *Salmonella* spp. from hen eggs in Casilda city, Santa Fe, Argentina. In order to determine the presence of *Salmonella* spp. in eggs from Casilda city, Santa Fe, Argentina, a total of 125 eggs were collected from different stores and yolks and egg shells were sampled. Both samples were seeded in tetrathionate broth with the addition of iodine and brilliant green solution and incubated at 43 ° C for 24 hours. An aliquot of the surface was taken from each medium seeded and seeded on Xylose-Lysine-Deoxycholate agar, being incubated for 24-48 hours at 37 ° C. The developed colonies were identified using biochemical tests and those identified as *Salmonella* spp. they were serotyped. Three strains of *Salmonella* spp. were isolated: *Salmonella* ser. Tiphymurium and *Salmonella* ser. Anatum from samples of yolk and *Salmonella* ser. Anatum from the egg shell of a third egg. The isolation of *Salmonella* spp. in eggs for human consumption reinforces the need to take biosecurity measures to reduce the incidence of this bacterium in the farms.

**Palabras clave:** huevos, *Salmonella*, Argentina

**Keywords:** eggs, *Salmonella*, Argentina

### Introducción

Los reportes sobre la incidencia de gastroenteritis causadas por *Salmonella* spp. en seres humanos han aumentado en diferentes partes del mundo. Las fuentes de infección, a menudo, se han asociado al consumo de alimentos de origen animal y sus subproductos, en especial de huevos crudos o parcialmente cocidos, como así también de vegetales y de aguas contaminadas (De Franceschi *et al.*, 1998; Leyva Castillo *et al.*, 1996). Son frecuentes los casos producidos por esta

bacteria, muchas veces en forma de brotes epidémicos (EFSA, 2011).

Por otra parte, los huevos de gallina recién puestos no suelen estar contaminados, si bien algunos microorganismos pueden llegar a él a través del oviducto. Los microorganismos presentes en el interior del huevo provienen principalmente del tracto intestinal de las aves, el polvo o las cajas de embalaje y almacenamiento y penetran a través de los poros de la cáscara si ésta se encuentra caliente y se contamina con materia fecal

fría: entonces los gérmenes pasan al interior conforme ésta se va enfriando (Leyva Castillo *et al.*, 1996).

Los datos publicados relativos a la incidencia de huevos contaminados con *Salmonella* spp. en nuestro país y en el mundo son muy variables (De Franceschi *et al.*, 1998; Mancera Martínez *et al.*, 2005), no habiendo registros de este tipo en la ciudad de Casilda. Por ello, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de *Salmonella* spp. en huevos destinados al consumo humano en la ciudad de Casilda, Santa Fe, lo cual podría representar un riesgo para la salud pública.

## Materiales y métodos

Durante el período comprendido entre el 1 de noviembre de 2011 y el 30 de julio de 2012 se recolectaron 125 huevos de gallina obtenidos en comercios u otros puestos de venta ubicados en diferentes zonas de la ciudad de Casilda, provincia de Santa Fe, Argentina, sin considerar el origen de los mismos, la fecha de postura ni la forma de almacenamiento. Para determinar la muestra se separó a la ciudad en bloques y dentro de cada bloque se hizo un muestreo simple al azar de puestos de venta, de donde se tomaron 6 huevos de cada uno. El tamaño muestral se estableció de acuerdo a la fórmula siguiente:  $n = (Z_{\alpha}^2 * p * q) / E^2$ , en donde  $Z_{\alpha}$  es el nivel de confianza y E el error máximo admisible en términos de proporción. Por lo tanto, con una confianza del 95% y en  $E=0,03$  se obtuvo  $n = \frac{1,96^2 * 0,03 * 0,97}{0,03^2} = 124,21 \cong 125$ .

Las muestras de cáscara se tomaron con tijera estéril, realizando un corte de 1 cm<sup>2</sup>. Las muestras de yema se obtuvieron utilizando hisopos de dacrón estériles. Ambos tipos de muestras se sembraron, independientemente, en tubos que contenían 10 ml de caldo tetraciónato (Laboratorio Britania SA, CABA, Argentina) con el agregado de solución de yodo y verde brillante (caldo de Muller - Kauffmann) y se incubaron a 43° C en baño maría durante 24 horas. Posteriormente, con un ansa de siembra se tomó una alícuota de la superficie de cada uno de los tubos y se sembró en agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD. Biokar Diagnostics, Francia), incubándose durante 24-48 horas a 37 °C (Bridson, 2006). Las colonias sospechosas de ser *Salmonella* spp. (rojas con centro negro) se identificaron utilizando pruebas bioquímicas convencionales: Agar-hierro-triple azúcar (Agar TSI), pruebas IMViC (Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer y Citrato), prueba de la ONPG (Orto Nitro Fenil Galactopiranosido) y prueba de la ureasa. La confirmación y posterior sero-tipificación de las cepas se realizó de acuerdo con el Esquema de White - Kauffmann - Le Minor (Caffer *et al.*, 2001), en el Servicio Enterobacterias, del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - A.N.L.I.S. " Dr. Carlos G. Malbrán".

## Resultados y discusión

En total se aislaron 3 cepas de *Salmonella* a partir de 3 huevos diferentes y provenientes de diferentes tandas (2,4 % de los huevos analizados). A partir de la yema de un huevo se aisló *Salmonella* ser. Typhimurium y a partir de otro se aisló *Salmonella* ser. Anatum. Por otro lado, también se recuperó *Salmonella* ser. Anatum a partir de la cáscara de un tercer huevo.

Se considera al consumo de huevo contaminado como una de las vías de infección con *Salmonella* spp. para el hombre (Bueno *et al.*, 2017; EFSA, 2011; Eng *et al.*, 2015). En un estudio previo en el que se analizaron 400 huevos de la ciudad de México, se aisló solo una cepa de *Salmonella* ser. Enteritidis a partir de un huevo contaminado, lo cual significa un 0,25 % de las muestras (Mancera Martínez *et al.*, 2005). Leyva Castillo y col. (1996) analizaron huevos de gallina frescos para consumo humano y de las 330 muestras de cáscara de huevo solamente de 2 (0,6 %) se recuperó *Salmonella*, mientras que no se aisló esta bacteria en ninguna de las 180 muestras de clara y yema. Estos autores también citan un trabajo de De la Osa y col. en donde se obtuvo 1 % de positividad a *Salmonella* en cáscara de huevo, pero sin que se aislase del contenido; y otro de Perales y col., que estudiaron 180 muestras de huevos no involucrados en brotes de enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) y procedentes de granja o de almacenes, en donde aislaron *Salmonella* en el interior del huevo de una de las muestras (0,6 %) y en 5 (2,8 %) de las cáscaras (Leyva Castillo *et al.*, 1996).

En nuestro estudio, que no utilizó pre-enriquecimiento (lo que podría haber incrementado el número de muestras positivas), a partir de yema de huevo se aislaron 2 serovariedades que ya han sido descritas como patógenos responsables de ETA en humanos (Krause *et al.*, 2001; Leyva Castillo *et al.*, 1996; Nosedá *et al.*, 2002). Por otro lado, en el caso del aislamiento de *Salmonella* a partir de la cáscara, su ausencia en la yema hace pensar que la integridad de la cáscara y de la cutícula pudo haber evitado la penetración de la bacteria al interior del huevo. A diferencia del serotipo específico de las aves (S. ser. Gallinarum), las restantes salmonelas pueden afectar a un amplio rango de hospedadores, lo que complica la aplicación de programas de control. A esto se le suma el hecho de que estas serovariedades suelen cursar de manera subclínica en las explotaciones avícolas, lo que dificulta su detección (Leyva Castillo *et al.*, 1996).

El aislamiento de 3 cepas de *Salmonella* spp., que pueden ser causa de ETA en humanos, a partir de huevos destinados al consumo humano en la ciudad de Casilda, refuerza la necesidad del cocimiento del producto antes de su consumo, la conservación de los huevos bajo condiciones adecuadas, el consumo antes de la fecha recomendada y la importancia de tomar medidas básicas de bioseguridad para disminuir la incidencia de esta bacteria en las granjas avícolas. En el

futuro sería importante poder comparar estas cepas con otras aisladas con anterioridad.

### **Bibliografía**

Bridson EY. 2006. The Oxoid Manual. 9th Edition. Basingstoke (Inglaterra), Oxoid Limited. Disponible en: <https://vdocuments.site/oxoid-manual-9th-edition.html>.

Bueno DJ, Soria MC, Soria MA, Procura F, Rodriguez FI, Godano EI. 2017. Egg Production Systems and *Salmonella* in South America. En: Producing Safe Eggs. Microbial Ecology of *Salmonella*. Elsevier B.V. Chapter 6: 87-110.

Caffer MI, Terragno R. 2001. Manual de procedimientos para la caracterización de *Salmonella*. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - Ministerio de Salud, Buenos Aires. 37pp.

De Franceschi M, Viora S, Anselmo R, Barrios H. 1998. *Salmonella* enteritidis en huevos frescos. Rev. Med. Vet. (Buenos Aires) 79: 5-7.

EFSA. 2011. Scientific Report of EFSA and ECDC. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. EFSA Journal 9: 2090

Eng SK, Pusparajah P, Ab Mutalib NS, Ser HL, Chan KG, Lee LH. 2015. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. Front. Life Sci. 8: 284-293.

Krause G, Terzagian R, Hammond R. 2001. Outbreak of *Salmonella* serotype anatum infection associated with unpasteurized orange juice. South Med. J. 94: 1168-1172.

Leyva Castillo V, Valdés Amey E, Cisneros Despaigne E, Pérez Rodríguez O. 1996. Determinación de *Salmonella* y enterobacterias totales en huevos frescos de gallina. Rev. Cubana Aliment. Nutr. 10: 83-86.

Mancera Martínez A, Vázquez Navarrete J, Ontiveros Corpus ML, Duran Valencia S, Lopez Huidobro D, Tenorio Gutiérrez V. 2005. Identificación de *Salmonella* Enteritidis en huevo para consumo en la ciudad de México. Tec. Pecu. Mex. 43: 229-237.

Nosedá RP, Bigalli MC, Andrich MG, Cordeviola JM, Bardón JC, Martínez AH, Combessies GM. 2002. Aislamiento de *Salmonella* en muestras clínicas humanas, animales y alimentos, durante 1988-2001. Vet. Arg. 19: 752-59.

---