

# Universidad de Guadalajara

Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia



Identificación y Tipificación de Salmonella  
en Hez de Agua de Mar.

T e s i s

que para obtener el Título de

Médico Veterinario Zootecnista

presenta

José Roberto Flores Salinas

Generación 66-71

Guadalajara, Jal., Julio de 1972

**EN MEMORIA DE MI ABUELO  
ILMO. EFRAIN SALINAS Y VELASCO**

**A MIS PADRES CON CARINO Y AGRADECIMIENTO  
POR SU CONSTANTE ESTIMULO**

**A MI ABUELITA TERESITA  
CON PROFUNDO RESPETO**

**A MIS HERMANOS**

**A MIS QUERIDOS TIOS:  
ALFONSO Y CELIA**

**CON ADMIRACION Y AGRADECIMIENTO AL  
DR. RAMON FERNANDEZ DE CEVALLOS  
EN RECONOCIMIENTO DE SU LABOR EN LA  
FORMACION DE MI CARRERA PROFESIONAL**



**OFICINA DE  
COMISION CIENTIFICA**

**AL DR. JAVIER RIVERA HERNANDEZ  
CON AGRADECIMIENTO POR LA AYUDA  
DESINTERESADA QUE ME BRINDO**

**A MIS MAESTROS**

**A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS:**

**JESUS CLEMENTE LOZOYA ASSAD  
JOSE DE ALBA JIMENEZ  
JORGE DE LA MORA AYALA  
JOSE MANUEL ACOSTA ZEVADA**

**A MI QUERIDA ESCUELA**

<u>CAPITULO</u>	<u>I N D I C E</u>	<u>PAG.</u>
I.-	INTRODUCCION	1
II.-	MATERIAL	7
III.-	METODOS	8
IV.-	RESULTADOS	10
V.-	DISCUSION	11
VI.-	CONCLUSIONES	16
VII.-	SUMARIO	17
VIII.-	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	20

## INTRODUCCION

Uno de los problemas actuales en el mundo es la alimentación. Según algunos investigadores, los alimentos agrícolas y ganaderos serán insuficientes en un futuro para el consumo humano, por tanto, debemos hechar mano de todas las riquezas naturales. Así, tenemos que existe en el mar una basta fauna y flora de entre las cuales nos es de especial estudio el pez, ya que es una gran fuente de alimento.

En la Ciudad de Guadalajara se han consumido durante los últimos cinco meses, 433,293 Kgs. de pescado de mar. En la Ciudad de México se consumen aproximadamente 152,798 Kgs. de pescado de mar mensualmente.

Actualmente el conocimiento de la ecología marina es imprescindible para estudiar de un modo científico el aprovechamiento de los recursos biológicos naturales; el equilibrio dinámico que entre sí guardan las especies útiles, cultivadas y domésticas con las espontáneas y salvajes es tan delicado, que toda alteración en él puede determinar consecuencias económicas y sanitarias para una Región. ( 1 )

El objetivo de esta tesis, es demostrar uno de los microorganismos presentes en el pez de mar, que es causante de enfermedad incapacitante temporal en el humano y, en ciertos casos, puede llegar a ser mortal. Por tanto, de importancia económica y sanitaria para un Pueblo.

Aunque mucho se ha escrito en los últimos cincuenta años sobre bacteriología del pez marino, es solo que hasta muy recientemente hemos empezado a comprender las complejidades envueltas, de manera que el panorama que empieza a surgir hoy, podemos decir que es uno que está lejos de ser completo. Así tenemos que la flora de los peces recién pescados depende de la operación, tanto de factores intrínsecos, como el ambiente y la estación del año; de factores extrínsecos, como la técnica de muestreo, los medios y las temperaturas de incubación que se usan. ( 2 )

Un aspecto interesante que no se debe dejar pasar por alto es el manejo del pescado en el mercado. En este caso me refiero a las bodegas de almacenamiento y a los expendios localizados en varios puntos de la Ciudad. Es necesario referirse a la mala conservación del pescado, el cual está sometido a bajas y altas temperaturas sin permanecer a una temperatura deseable. ( 4 ) .

La temperatura es el factor más importante de que depende la alteración del pescado. Cuanto más frío se mantiene éste, su vida es más larga; y por el contrario, cuanto más alta es la temperatura éste se altera. A  $0^{\circ}\text{C}$ ., se conserva 16 días; A  $4.5^{\circ}\text{C}$ ., el periodo es de 6 a 7 días y a  $15^{\circ}\text{C}$ ., de 2 días. ( 4 ) .

El pescado se descarga del barco en cestos. Estos son arrastrados desde el muelle hasta las básculas donde se pesan, siendo después vaciados en recipientes de aluminio. El pescado grande no puede ser transportado en los cestos y se deja sobre el suelo en el mercado hasta que es vendido. Las ventas comienzan a las 7.30 Hs., y no es infrecuente ver a los compradores subirse y permanecer sobre los cestos mientras que comienza la subasta. Realizada la compra, el pescado se lleva a las factorías de procesado, en caso de grandes firmas y a los expendios en los mercados, si se trata de pequeños comerciantes.

Estos expendios en los mercados, están constituidos por un espacio reducido en el propio mercado, donde se prepara el pescado para su despacho. Los utensilios usados para el faeneado, son: una pila de fileteado, básculas, cuchillo, cajas, nevera de hielo ó cabina de refrigeración. En la mayoría de los casos, la pila de fileteado es simplemente

un recipiente de metal galvanizado o una artesa de madera que posee un orificio de vaciado a la que están unidas dos ó más tablas de madera dura para el fileteado. Cuando se emplea la madera, este material está continuamente húmedo y pronto se satura y hace poroso, presentando una superficie que no es posible limpiar adecuadamente. ( 4 )

Todos los animales marinos tienen constantemente sobre su superficie externa poblaciones bacterianas más o menos grandes. En el caso de los pescados que nadan libremente, la cantidad de gérmenes existentes en la piel oscila entre  $10^2$  a  $10^6$ , por gramo cuadrado. En las branquias de  $10^3$  a  $10^5$  por gramo y en intestino, desde muy pocos en peces en ayunas hasta  $10^7$  ó más en peces que comieron. ( 5 )

Por lo común, las bacterias halladas en el pescado vivo son con preferencia psicrófilas ( crecen bién a  $0^{\circ}\text{C}$ , susceptibles de multiplicarse en el agua de mar sin llegar a ser absolutamente alófilas (animales que viven en partes saladas), aerobias y atacantes más activas de las substancias proteícas que de las hidrocarbúradas. ( 5 )

Los primeros investigadores como Ulrich ( 1906 ) y Bruns ( 1908 ) emplearon métodos y medios que habían resultado idóneos

sobre el examen de la carne y sus productos para patógenos, principalmente porque tenían que ver con la higiene del manejo del pescado particularmente con el envenenamiento de alimentos.

Como posteriormente lo demostró Hunter, ( 1920 a, b 1922 ). Fellers ( 1926 ) y Harrison ( 1928 ) entre otros, las bacterias en el pescado fresco y en el descompuesto tienen una temperatura de desarrollo óptima más baja que los patógenos humanos. Así mismo Elliot ( 1948 ) y Liston ( 1955 ), demostraron que tanto cualitativa como cuantitativamente, se obtienen resultados muy distintos con el pez marino, dependiendo de que se haya usado agua de mar ó de extracción. ( 2 )

Si fuese cierto que la flora bacteriana de un pescado se reflejara en las condiciones bacteriológicas de las aguas del cual se originó, entonces el pescado podría ser considerado como un indicador de las condiciones de estas aguas, porque el pescado cubre grandes distancias en diferentes aguas. El examen de su contenido intestinal suplementa en una buena forma el muestreo de las aguas. ( 6 )

Estudios anteriores han demostrado que Menhaden - (variedad de pescado) un ingrediente común de alimentos animales, con

frecuencia está contaminado con Salmonellas. Los animales que comen alimento contaminado, pueden llegar a infectarse y si ellos a su vez son consumidos por humanos, pueden ser medio por el cual las Salmonellas se introducen a la población humana. ( 7 )

El pescado necesita tener una atención especial porque en comparación con las restantes carnes utilizadas en la alimentación humana, es la que más fácilmente se descompone debido a la fácil penetración bacteriana, por tener poco tejido conjuntivo y por la textura especial del tejido muscular, que se torna alcalino; por lo tanto, favorece la proliferación bacteriana. ( 3 )

La Salmonellosis alimentaria, por ejemplo, una enfermedad de naturaleza generalmente zoonótica, es considerada por muchos como un problema de salud pública de gran interés. ( 3 ) ( Pág. 10 )

En México, la tasa de mortalidad por fiebre tifoidea ha disminuído considerablemente en los últimos veintitrés años . En 1941, el coeficiente fué de 40.1 por 100,000 habitantes. La morbilidad también ha disminuído. Sin embargo, según la información del boletín epidemiológico de la Secretaría de Salubridad y Asistencia hubo 6,387 casos en el País con una tasa de 15.1 por 100,000 habitantes. ( 3 )

## MATERIAL

- 1.- Tubos de cultivo.
- 2.- Matraz de 250 cc.
- 3.- Cajas de Petri.
- 4.- Porta-objetos.
- 5.- Asa Bacteriológica.
- 6.- Isopos.
- 7.- Caja de aglutinación.

## MEDIOS DE CULTIVO

Selenite, Verde Brillante, Triple Azúcar Hierro, Urea.

## BIOLOGICOS

- 8.- ( Muestras ) Intestinos de pez Sierra ( Pescado de Mar )
- 9.- Antisuero de los diferentes serotipos de Salmonella:

Polivalente  
Grupo Poly A<sup>1</sup>  
Grupo A factor 2  
Grupo B  
Grupo C<sup>1</sup>  
Grupo D  
Grupo E<sup>1</sup>  
Grupo E<sup>2</sup>  
Grupo G

## M E T O D O S

Se utilizaron para este estudio 400 muestras de intestino de pez sierra (pescado de mar), originario de San Blas, Nay., obtenidos en varios expendios de la Ciudad de Guadalajara, Jal.

Adquiridas las muestras, fueron transportadas al Laboratorio y depositadas en una charola. Se quemó la porción externa del intestino que va a ser la muestra, mediante una espátula, con el objeto de destruir los contaminantes encontrados en la superficie del intestino. La muestra es tomada mediante pinzas y tijeras, las cuales son flameadas en el mechero para así sembrarse en un tubo con selenite ( medio de cultivo ). Para introducir la muestra en este medio, se flamea la boca del tubo antes y después de introducir ésta; el tubo se tapa con un tapón de algodón.

Los tubos con la muestra correspondiente son llevados a la estufa bacteriológica para ser incubados durante 24 Hrs. a una temperatura de 37° C. Pasado dicho tiempo se observará una turbidez en los tubos, la cual es muestra de crecimiento bacteriano. Se resiembran en verde brillante ( medio sólido ), dejándose incubar durante 24 a 36 Hs., a 37° C. Al término de dicho tiempo, se observan las colonias que son

transparentes y de borde circular; así mismo, encontrando el medio con un viraje hacia el color rojo.

Se resiembró de esas colonias a Urea y Triple Azúcar Hierro, los cuales se utilizaron como medios de diferenciación. Se dejan incubar de 24 a 36 Hs. a 37°C., al término de los cuales se efectúa la lectura en Triple Azúcar Hierro que debe tener, fondo amarillo, indicando con eso la fermentación de la dextrosa por Salmonella; la superficie del medio, color rojo, lo cual nos indica que esta bacteria es lactosa negativo; observándose también un ennegrecimiento que es indicativo de producción de ácido sulfhídrico, y, sin viraje de color alguno para Urea; encontrándose así mismo producción de gas por algunas cepas.

La serotipificación se realizó de la siguiente manera:

Al medio de diferenciación ( Triple Azúcar Hierro ) ya incubado y con las características descritas anteriormente para este medio, se le añadió 1 ml. de agua bidestilada estéril, mezclándose con el crecimiento bacteriano del medio. Después, se puso una gota de este medio en nueve porta-objetos diferentes. A cada uno se le pone una gota de antisuero de Salmonella específico de los nueve diferentes serotipos. Se mezclan bien con palillos. Se dejan reposar y se hace la observación para detectar aglutinación, indicando con ello el tipo serológico correspondiente.

## R E S U L T A D O S

Para este estudio se examinaron 400 muestras de intestino de pez sierra ( pescado de mar ); de las cuales se obtuvieron DOS positivas, ó sea, un porcentaje de 0.5% de Salmonella.

De estas muestras ( positivas a Salmonella ), UNA fué Salmonella Choleraesuis, la cual representa el 50%; y UNA fué Salmonella Anatum que corresponde al 50%.

## D I S C U S I O N

Se aisló un 0.5% de *Salmonella Spp.* en pescado de mar que podemos considerar como un porcentaje alto por las siguientes características: Por vivir el animal en aguas de mar; esta agua tiene - 19.3 grs. por litro, de cloro y 10.7 grs. por litro, de sodio. Estas cantidades son muy altas en relación a las aguas blandas que tienen 0.019 grs. por litro, de cloro y 0.016 grs. por litro de sodio. ( 10 )

El cloruro sódico ( sal ), retarda y previene el crecimiento bacteriano, esto se debe a que al aumentar la presión osmótica causa la plasmólisis de los gérmenes. Otra acción que tiene el cloruro sódico ( sal ), es el de desecar en este caso al pescado al extraerlo y sirve como un conservador, aunque también puede desecar a los gérmenes. ( 9 )

El p.H. del agua de mar es de 6.0 ( 11 ) . Este p.H. tiene una gran influencia no solo por sus efectos sobre el rigor -mortis, sino también por su efecto sobre el desarrollo bacteriano. Cuánto más bajo sea el p.H. muscular, tanto más lenta será la descomposición bacteriana. El descenso del p.H., es consecuencia de la conversión del glucógeno en ácido láctico. ( 9 )

Indudablemente la salinidad y el p.H. del agua de mar no favorecen directamente la supervivencia de coliformes ( Carlucci y Pramer, 1960 ), a menos que estén protegidos por polución orgánica o ciertas sales minerales. Este, evidentemente es un factor casual de alguna significancia. ( 6 )

Substancias termolábiles de una naturaleza de - antibiótico han sido repetidamente encontradas en el agua de mar ( -Zo.Bell 1936, Krassilnikov 1938 ); más adelante, microorganismos marinos han sido encontrados que producen tales substancias ( Rosenbeld y Zo.Bell, 1947 ) ( 6 )

( Johannesson 1957 ), reportó un claro efecto bactericida del agua de mar sobre coliformes. El indicó que el agente activo inorgánico, es idéntico al yodo. ( 6 )

Según ( George K. Morris ), en un estudio sobre plantas industrializadoras del pescado, haciendo un examen de 190 peces, inmediatamente después de capturados en el Golfo de México, no revelaron la existencia de Salmonellas; pero estas con frecuencia fueron aisladas de pescados tomados de los barcos cuando llegaban a las plantas. Con frecuencia también se aislaron de aguas de los diques. ( 7 )

La captura del pez sierra se efectuó en el mar cercano a las costas de San Blas, Nay., donde existen poluciones ya que las aguas del Río Santiago, desembocan en esa Región contaminando las aguas cercanas a la costa, ya que el drenaje de la Ciudad de Guadalajara descarga sus aguas en dicho Río. Así mismo los Pueblos localizados en los márgenes del mismo, descargan sus poluciones en éste. Lo mismo sucede con los Poblados cercanos a la Costa, ya que estos descargan sus drenajes al mar. Por tanto, los peces recogidos en el agua de mar próxima a la costa, estan contaminados con bacterias entéricas, pero los peces recogidos en el mar abierto, no lo están. ( 7 )

( Floyd y Jones, 1954 ) , estudiando 376 lotes de pescado, revelaron la presencia de Salmonella en un 11% de los lotes; cabe aclarar que no especifican en que tipo de agua se encontraban estos peces antes de ser capturados . ( 6 )

El pescado que vive en aguas contaminadas con substancias de tierra firme puede llevar cantidades elevadas de bacterias normalmente relacionadas con animales terrestres, por más que, incluso en tales casos dichos gérmenes, nunca alcanzan proporciones altas en el total de la flora bacteriana. Pese a ello, la presencia de esas espe-

cies bacterianas reviste gran importancia desde el punto de vista de la -  
higiéne y sanidad públicas .( 5 )

( Jadin ét al, 1957 ) discutió la posibilidad de  
transmisión de Shigella y Salmonella por pescado. ( 6 )

( Markoff. 1939-1940 ) cree que la presencia  
en visceras de pescado, de bacterias tipo coli, muestra que el pescado  
ha estado en aguas con polución. ( 6 )

( Houston 1903, Johnson 1904, Fellers 1926,  
Gibbons 1934, Zo. Bell 1941, Guélin 1952, Jadin 1957 ) pudieron  
concluir que el pescado se contaminaba con esterobacterias, cuando era  
expuesto a aguas poluladas. ( 6 )

( Kriss 1959 ), reveló la presencia de bacterió-  
fagos activos en bacterias marinas. Han sido aislados in vitro y en agua  
hasta 2,000 metros de profundidad. En aguas de polución, siempre han  
sido aislados. Los bacterófagos son constantes compañeros de bacterias  
y que su número varía de acuerdo con el número de bacterias presentes;  
pueden ser vistos como evidencia de aguas contaminadas. ( 6 )

( Morzycki ét al, 1953 ), concluyó en un estudio de las aguas ( Vistula ) sobre 427 Kilómetros, que los bacteriófagos Vi., pueden considerarse como un organismo específico indicando la presencia de bacilos típicos en el agua; La resistencia del fago en aguas industriales le hace de más valor. ( 6 )

## CONCLUSIONES

- 1.- Se aisló un 0.5% de Salmonella, que consideramos un alto porcentaje porque como mencionamos anteriormente, la salinidad y el p.H. del agua de mar, no favorecen la supervivencia de Salmonellas.
  
- 2.- La presencia de Salmonella en un pez, puede explicarse por el hecho de estar contaminado el medio en que subsiste.

## S U M A R I O

Uno de los problemas actuales en el mundo, es la alimentación; según algunos investigadores, los alimentos agrícolas y ganaderos serán insuficientes en un futuro, para el consumo humano; por lo tanto, debemos hechar mano de todas las riquezas naturales. Así, tenemos que existe en el mar una basta fauna y flora, de entre las cuales nos es de especial estudio el pez, ya que es una gran fuente de alimento.

En la Ciudad de Guadalajara, se han consumido durante los últimos cinco meses, 433,293 Kgs. de pescado de mar. En la Ciudad de México se consumen aproximadamente 152,798 Kgs. de pescado de mar mensualmente.

El pescado necesita tener un cuidado especial porque en comparación con las demás carnes utilizadas en la alimentación humana es la más fácil de descomponer debido a la fácil penetración bacteriana.

La Salmonellosis alimentaria es una enfermedad de naturaleza generalmente zoonótica y es considerada como un problema de salud pública.

El material descrito en el capítulo correspondiente -  
fué proporcionado por el Laboratorio de Bacteriología de la ESCUELA DE  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE GUA-  
DALAJARA. Así mismo, los medios de cultivo, donde fué elaborado este  
estudio.

Los medios de cultivo usados fueron: Selenite ( líquido ), Verde Brillante, Urea y Triple Azúcar Hierro ( sólidos). El medio Selenite, se usó como medio de enriquecimiento. Verde Brillante, como medio para el aislamiento de colonias bacterianas y, Urea y Triple Azúcar Hierro, como medios de diferenciación bacteriana. La Temperatura usada en todos los casos, fué de 37° C; realizandose las lecturas de los medios y los pases de resembrado cada 24 a 36 Hs. La serotipificación de Salmonella fué realizada exclusivamente por la reacción de AGLUTINACION EN PLACA.

Los resultados obtenidos con este estudio, fueron como se describe en el capítulo correspondiente de: 0.5 % de Salmonella, correspondiendo el 50 % a Salmonella Choleraesuis y 50 % a Salmonella Anatum.

Actualmente uno de los problemas de preocupación mundial es la contaminación ambiental, el cual es un factor importante para la supervivencia de los organismos vivos. Creemos que la contaminación

de las aguas marinas es otro problema de preocupación el cual debemos resolver, ya que en ellas encontramos una gran fuente de alimento.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- **BIOLOGIA GENERAL**  
José de Lille Borja.- Pág. 247  
9a. Edición.- Porrúa, Méx.- 1961.
- 2.- **FISH AS FOOD VOL. 1**  
George Borgstrom.- J. M. Shewan.- Págs. 487 - 496  
Academic Press - New York and London.
- 3.- **TESIS: SALMONELLOSIS EN PEZ DE AGUA DULCE**  
M.V.Z. Sergio Bojorquez R.- U. de G.- Págs. 9 - 10  
1972.
- 4.- **EL PESCADO Y SU INSPECCION**  
John D. Syme .- Págs. 207- 208  
Edición 1970.
- 5.- **TECNOLOGIA DE LA INDUSTRIA PESQUERA**  
Maurice E. Stansby .- John A. Dasson  
Traducción Dr. Jaime Esaín Escobar.- Págs. 403 - 404  
Acribia, Zaragoza, España .
- 6.- **POULLETED WATERS AND THE CONTAMINATION OF FISH.**  
A. Guélin  
Institut Pasteur.- París, France.
- 7.- **SALMONELLAE IN FISH MEALS PLANTS**  
George K. Morris.  
William T. Martin, William H.  
Shelton, Joy G. Wells Philip S.  
Brachman.  
Epidemiology Program,  
National Communicable Disease Center,  
Atlanta, Georgia 30333.- 1969.

- 8.- DATOS.- III REGION PESQUERA  
Archivo General de la Oficina de Pesca.  
Guadalajara, Jal., - 1972.
- 9.- MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS  
W. C. Frazier. Tr. Bernabé  
Sanz Pérez y Justino Burgos  
Acribia, Zaragoza.-España.- 1962.
- 10.- BASIC CONCEPTS OF ECOLOGY  
Clifford B. Knight .- Págs. 81 - 95  
The MacMillan Company,  
Collier MacMillan Limited London.
- 11.- DATOS. INSTITUTO DE AGROLOGIA  
S. R. H. .- Oficina en Guadalajara, Jal. -  
1972.