

Publicación
Oficial



Negocios de

Avicultura

Publicación líder sobre empresas, productos y servicios de Avicultura

Nº
96
MAR/
21

ISSN 1853-600X

TECNICATURA
UNIVERSITARIA:
UN POCO DE
HISTORIA...

FONDO
COLABORATIVO
DE PRODUCTORES

ESTUDIOS
SOBRE
SALMONELLA



El control de la Bronquitis
NO ES UN JUEGO

El control de la Bronquitis
NO ES UN JUEGO

Protectotype
IB Ma5 + 4/91

Máxima protección contra la Bronquitis Infecciosa

Si nos enfocamos de manera individual en el control de cada nueva variante de la Bronquitis Infecciosa estamos trabajando de manera más compleja y poco eficiente, es por esto que MSD promueve el concepto *Protectotipo* a través de la combinación de las vacunas Nobilis IB Ma5 y Nobilis IB 4/91 para lograr una protección de amplio espectro y larga duración.

Proteja sus aves con IB Ma5 + 4/91 y deje que ellas hablen por sí solas.



AviculturaAr@merck.com
www.msd-salud-animal.com.ar

MSD
Salud Animal

New Gen

Papagayos - San Luis - Argentina



Nueva Genética
Árbol Azul Plus

New Gen Breeders S.A. Argerich 1211 (C1416AXD), Buenos Aires, Argentina - + 54 11 4583 4397
Ventas: (03442) 15416810 / info@newgenb.com.ar/ JBonura@soychu.com.ar

/avesyporcinos.com.ar



Estudios presentados en relación a *Salmonella* spp. en la IV reunión conjunta por sociedades de biología de la República Argentina



Johanna N. Makaruk, Yamila M. Cimino, Dante J. Bueno, INTA EEA Concepción del Uruguay, Entre Ríos. C. electrónico: bueno.dante@inta.gob.ar

Introducción

Desde el 9 al 15 de septiembre del 2020 se llevó a cabo de manera virtual la IV reunión conjunta de Sociedades de Biología de la República Argentina denominada “Nuevas Evidencias y Cambios de Paradigmas en Ciencias Biológicas” en concordancia con la XXXVIII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Cuyo, XXIII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Córdoba y XXXVII Reunión Anual de la Asociación de Biología de Tucumán. Además, se contó con la participación de la Sociedad Argentina de Biología, Sociedad de Biología de Rosario y la Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo. En este evento, asistieron de manera virtual 1.800 participantes, presentándose 559 trabajos de distintos puntos de Argentina, clasificados en 11 áreas temáticas diferentes.

La palabra “biología” deriva de las raíces griegas bios, que significa vida, y logos, que significa palabra, pensamiento, discurso y, por extensión, un cuerpo de conocimiento o ciencia. Esta ciencia constituye un dialecto importante, que permite viajar por el terreno de los seres vivos. Dentro de ellos, los microorganismos constituyen un grupo importante. Las células microbianas se distinguen de las células animales y plantas en que son incapaces de vivir aisladas en la naturaleza y sólo existen formando parte de organismos multicelulares. El dominio Bacteria es uno de los dominios de los seres vivos, que forman parte de los microorganismos. Referido a ello, *Salmonella* es una bacteria de bacilos gramnegativos que pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Se reconocen más de 2.500 serotipos diferentes dentro de este género capaces de producir infecciones intestinales en los animales y en el hombre, y, a su vez, pérdidas económicas.

Salmonella spp. es una de las bacterias de mayor importancia en la producción avícola tanto por su impacto en la salud de las aves como en la salud pública. Las infecciones de las aves con salmonelas pueden agruparse principalmente en dos categorías:

·Infecciones con un serotipo (2 biovares) no móvil: Salmonella ser. Gallinarum biovar Pullorum (más conocida Salmonella Pullorum) y Salmonella ser. Gallinarum biovar Gallinarum (más conocida como Salmonella Gallinarum), los cuales son, por lo general, específicos de huésped para las especies aviares y causan alta mortandad.

·Infecciones de un grupo de serotipos móviles de Salmonella, llamado como salmonelas paratifoideas (PT), invasivas pantrópicas ó zoonóticas (móviles), que son la principal causante de enfermedades alimenticias en humanos. A este grupo pertenecen diversos serotipos, siendo los más importantes Typhimurium y Enteritidis, dado que son potencialmente patógenos para el hombre, Además, se pueden encontrar S. ser. Heidelberg, S. ser. Livingstone, S. ser. Infantis, S. ser. Kentucky y S. ser. Agona.

Por ello, en este artículo se describen los trabajos relacionados a Salmonella spp. que se presentaron en la IV reunión conjunta de Sociedades de Biología de la República Argentina. Sólo en 2 de las áreas temáticas (“Biología General, Celular y Molecular”, y “Microbiología e Inmunología”) se presentaron trabajos relacionados a esta bacteria.

Biología General, Celular y Molecular

Esta categoría se centra en comprender la célula y funciones en relación al material genético (ADN y ARN). Dentro de ésta se presentó el trabajo titulado “Aspectos relevantes del genoma de la cepa autóctona Bacillus amyloliquefaciens MEP218 productora de fengicinas con actividad antibacteriana”, donde se analizó el genoma de dicha cepa, recientemente secuenciada, en búsqueda de genes con potencial aplicación biotecnológica y de poder ampliar el espectro de acción antibacteriana contra otros patógenos, como por ej., Salmonella spp. Referido a este último, la actividad antibacteriana fue realizada en placas de agar Luria Bertani junto con discos de papel embebidos en 10 µL de fengicina (10 mg/mL) o 10 µL de lipopéptidos cíclicos (LPC) 50x. Como controles se utilizaron 10 µL del extracto obtenido de la cepa JH642, no productora de LPC, y 10 µL de metanol (utilizado para solubilizar los LPC). En los ensayos de antagonismo en placa se observó que tanto los LPC 50X como las fengicinas producidas por MEP218 inhibieron notablemente el crecimiento de los patógenos ensayados. La incorporación de la secuencia del genoma del MEP218 contribuye a ampliar las bases de datos de Bacillus con sus particularidades únicas como productor de fengicinas antibacterianas y como un recurso posible para la obtención de enzimas con potencial uso biotecnológico, ya sea como suplemento para la alimentación animal o para la industria del bioetanol.

Microbiología e Inmunología

La Microbiología e Inmunología estudian los conceptos básicos sobre microbiología general, destacando diferentes aspectos de microorganismos, como así también las diferentes estrategias del sistema inmune. Los trabajos relacionados a Salmonella spp. que se presentaron fueron 6:

1) “Comparación de dos medios de cultivos selectivos-diferenciales para el aislamiento de *Salmonella* spp. de cama de galpones avícolas”. Este trabajo tuvo por objetivo evaluar el desempeño de agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) y agar *Salmonella* Shigella (SS) como medios de cultivo selectivos- diferenciales para aislar *Salmonella* spp. en muestras de hisopado de cama de galpón de aves (Figura 1).

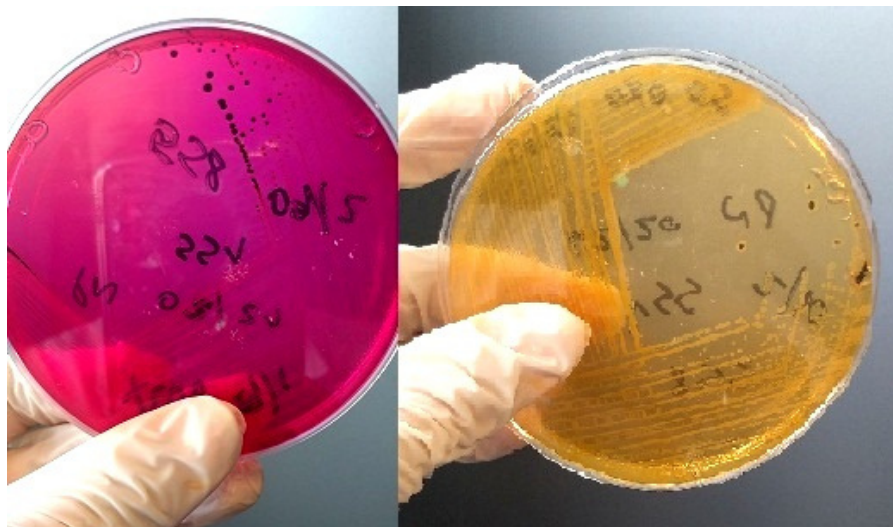


Figura 1. Crecimiento de *Salmonella* spp. en agar xilosa lisina desoxicolato (derecha) y agar *Salmonella* Shigella (izquierda).

Se procesaron 580 muestras que fueron tomadas desde junio 2019 a julio 2020. El aislamiento se realizó siguiendo la marcha bacteriológica propuesta por SENASA (resol. N° 86/2016), usando sólo el medio semisólido como medio de enriquecimiento selectivo, y los ágares XLD y SS como medios de cultivo agarizados selectivos-diferenciales. De cada placa de estos medios se tomaron 2 colonias presuntivas de *Salmonella* spp. (colonias transparentes con centro negro) y se realizaron pruebas bioquímicas confirmatorias y serología para su tipificación.

Cuando no había colonias presuntivas, igualmente se tomaron dos colonias bacterianas. Se calculó la prevalencia aparente, exactitud (EXAr), sensibilidad (SEr), especificidad (Espr), valores predictivos positivos (VPPr) y negativos (VPNr), e índice de Youden (Yr) relativos del XLD y SS y la concordancia entre ambos (índice kappa y test de Mc Nemar). La prevalencia aparente para ambos medios fue de 12%. Se tipificaron 177 cepas aisladas de *Salmonella* sp. de 1.160 colonias bacterianas tomadas de cada medio de cultivo selectivo-diferencial. Sin considerar el color de la colonia, no hubo diferencias entre los medios XLD y SS en ninguno de los parámetros evaluados, y la concordancia entre los mismos fue excelente, sin diferencia estadística. Sin embargo, al tomar en cuenta el color de las colonias compatibles, el agar XLD tuvo un desempeño estadísticamente mejor en cuanto a Yr, EXAr, Espr y VPPr que el agar SS. Por todo ello, aunque el desempeño del agar XLD y el agar SS es igual en cuanto al aislamiento de *Salmonella* spp. en muestras de hisopados de cama, los valores de los parámetros obtenidos en base a la propiedad diferencial de los medios (color de colonia bacteriana) le otorgan una ventaja al agar XLD para el aislamiento de esta bacteria en las muestras evaluadas. (Figura 1)

2) “Parámetros químicos y microbiológicos en la evaluación del proceso tecnológico de producción de pimentón”. Este trabajo determinó el color ASTA, perfil de compuestos volátiles mayoritarios y aspecto microbiológico que caracterizaron los pimentones procedentes de 3 sistemas de secado, cultivados en departamento de Santa María, Catamarca. Para ello, se analizaron 15 muestras de 2 variedades: Trompa de elefante y Negral con diferentes procesos de secado, secado en micro túnel, con paneles solares y secado tradicional. Los compuestos orgánicos volátiles (COVs) fueron analizados por cromatografía gaseosa (HS-CG y CG-MS). Los análisis microbiológicos se realizaron según los métodos de American Public Health Association (APHA). En la determinación del color ASTA o contenido total de carotenoides se aplicó el método ASTA 20.1 (American Spice Trade Association). Los análisis microbiológicos comprendieron *Salmonella* spp. junto con otros microorganismos, y cumplieron con la normativa de SENASA en un 90%. El perfil de COVs obtenido revela que las condiciones de temperaturas y tiempo de secado son las adecuadas en los secaderos no tradicionales, evitando la pérdida de volátiles. El aspecto microbiológico en los procesos es aceptable lo que implica que la actividad acuosa del producto es baja, favoreciendo un estado apropiado.

3) “Estudio fitoquímico y potenciales propiedades antibacterianas del subextracto diclorometano de *Flourensia blakeana* sobre microorganismos patógenos”. Este trabajo abordó el estudio de posibles propiedades antibacterianas del subextracto diclorometano (DCM) de *F. blakeana* contra bacterias patógenas que causan diarrea aguda, intoxicación alimentaria y otras enfermedades conjuntamente con la identificación de algunos compuestos presentes en el subextracto. El material vegetal se recogió en el departamento Tafí del Valle, Tucumán. De ese material se purificaron flavonoides, derivados del ácido cósico, monoterpenos y sesquiterpenos.

La dilucidación estructural de los compuestos se determinó por espectroscopia RMN en una y dos dimensiones (^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC). El ensayo de sensibilidad antibacteriana se llevó a cabo con 5 cepas de distintas bacterias, entre ellas *Salmonella* entérica serovar Enteritidis ACC PA03. La actividad se determinó por el método de difusión en placa. El subextracto DMC mostró actividad antimicrobiana (concentración inhibitoria fue de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) frente a *S. Ser. Enteritidis* AC PA03. Estos resultados indican que el subextracto DMC de *F. blakeana* tiene propiedades antibacterianas selectivas frente a algunas de las bacterias estudiadas (sólo *Salmonella* ser. Enteritidis ACC PA03 y *Bacillus subtilis* BSGC 168), posiblemente relacionada a los metabolitos identificados.

4) “Biopelículas de *Salmonella*: participación del sistema regulatorio RcsCDB”. *Salmonella* spp. puede formar biopelículas (comunidades de bacterias que se encuentran colonizando) en la superficie de cálculos biliares, permitiendo la persistencia de la infección de los pacientes afectados. Por ello, en este trabajo se determinó si las condiciones de activación del sistema RcsCDB tenía la capacidad de afectar el fenotipo rojo, seco y rugoso y la formación de biopelículas en placas de poliestireno, característicos de *Salmonella*. Se conoce que el sistema regulatorio RcsCDB tiene un papel importante en la fisiología bacteriana, principalmente en la respuesta al estrés extracitoplasmático. Los factores que afectan la envoltura celular conducen a la activación del sistema y, en consecuencia, a la modulación de la síntesis de la cápsula, motilidad y la formación de biopelículas. Para este estudio, se empleó la cepa salvaje *Salmonella* ser.

Typhimurium14028s, portando el plásmido prcsB, y las mutantes tolByrcsC11 como condiciones de activación del sistema RcsCDB. Además, se comparó la capacidad de formación de biopelículas de la mutante respecto a la cepa salvaje sobre cálculos biliares de tamaño uniformes. Se incubó los cálculos biliares en medio de cultivo Luria Bertani sin sal. Luego de 7 días, evaluada la biopelícula formada mediante microscopía electrónica de barrido, los resultados demostraron que la activación del sistema RcsCDB afectó negativamente el desarrollo de la biopelícula de Salmonella, demostrando el papel importante que cumple el sistema RcsCDB sobre esta bacteria. La incapacidad de la mutante rcsC11 (en la que se produce la activación constitutiva del sistema RcsCDB) para formar biopelículas representa una característica más para su uso en el desarrollo de vacunas atenuadas contra Salmonella.

5) “Identificación de colicinas producidas por aislados clínicos de pacientes con infecciones gastrointestinales”. En este trabajo se identificaron y analizaron diferentes compuestos antimicrobianos producidos por aislados clínicos (AC) del género Shigella obtenidos de pacientes con infecciones gastrointestinales obtenidos en el período de verano 2013-2018 en la región del Noroeste de Argentina (Catamarca, Santiago del Estero y Tucumán). En estudios previos se identificaron 54 AC capaces de producir agentes antimicrobianos que inhiben el crecimiento de la cepa indicadora E. coliAB1133. En base al análisis anterior, se seleccionaron y analizaron 11 AC que produjeron y secretaron al sobrenadante compuestos con una mayor actividad antimicrobiana. La clasificación serológica de dichos AC fue confirmada mediante PCR múltiple. La actividad antimicrobiana de los sobrenadantes de cultivos libres de célula fue determinada frente a la cepa patógena E. coliO157:H7 y a otros AC del género Salmonella obtenidos en el laboratorio. Además, se estudió el patrón de resistencia de los 11 aislados productores frente a diferentes antibióticos y el contenido plasmídico de cada uno de ellos, con el fin de determinar una relación entre ambos patrones. De los 11 AC analizados, se seleccionaron 3 compuestos antimicrobianos que presentaron mayor actividad y espectro de acción. Luego, se realizó una purificación parcial de los compuestos seleccionados mediante precipitación con sulfato de amonio y se determinó su actividad antimicrobiana. Finalmente, se estudió el rango de peso molecular de los compuestos mediante electroforesis en geles de poliacrilamida. Aunque no se dan detalles de la acción antimicrobiana frente a las distintas cepas ensayadas, los resultados demostraron que los 3 compuestos fueron diferentes, pero presentaron características semejantes a las colicinas, principalmente por su elevado peso molecular, sugiriendo que podrían ser utilizados para el desarrollo de nuevos antibióticos o de conservantes de alimentos.

6) “Sensibilidad antibiótica en Salmonellas aisladas en granjas avícolas de la provincia de Tucumán”. En este trabajo se estudió la sensibilidad antibacteriana in vitro frente a 71 cepas de Salmonella spp., aisladas de granjas avícolas de Tucumán, Argentina, entre agosto del 2013 y julio del 2017. Para ello, se utilizó el método de difusión de Kirby Bauer (Figura 2), y se siguió las recomendaciones del Instituto de Estandarización Clínico y de Laboratorio de Estados Unidos, considerándose a una cepa como sensible, intermedia o resistente a los 30 antibióticos estudiados.

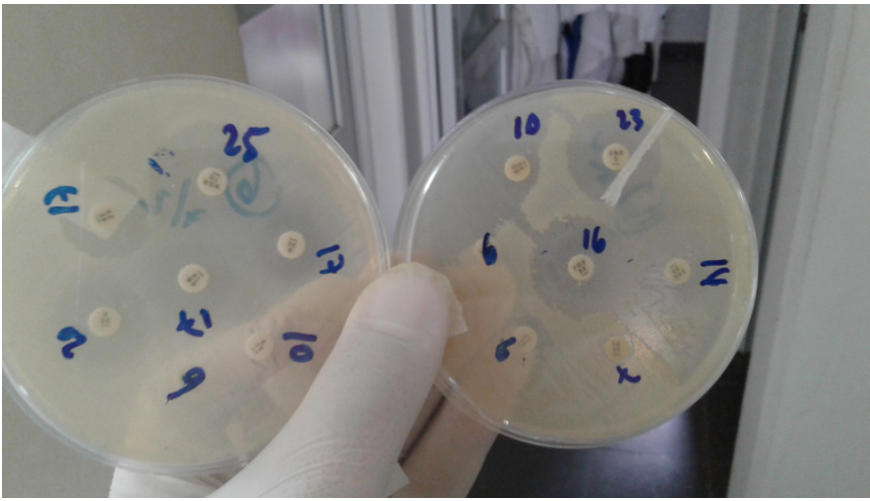


Figura 2. Estudio de sensibilidad antimicrobiana de una cepa de *Salmonella* spp. siguiendo el método de difusión de Kirby Bauer.

También se calculó el índice de resistencia múltiple a los antibióticos (IRMA), considerando para ello la cantidad de cepas y antibióticos estudiados. Este parámetro estuvo entre 0,06 y 0,63 para salmonelas inmóviles y en salmonelas móviles el rango fue de 0,03 a 0,2. Hubo 7 cepas que tuvieron un IRMA mayor a 0,28, considerado un valor de alto riesgo. Todas las cepas fueron resistentes a la eritromicina, explicable porque las enterobacterias tienen resistencia natural a este antibiótico. Otros antibióticos que mostraron resistencia fueron el ácido nalidíxico, la ceftazidima, el florfenicol y la enrofloxacin. Una granja que mostró mayor IRMA tuvo antecedentes de *Salmonella* en sus instalaciones. Aunque, en general, las cepas de *Salmonella* spp., aisladas de granjas avícolas de Tucumán, no presentan multirresistencia a los antibióticos ensayados, la existencia de algunas cepas multirresistentes indica la importancia de realizar el antibiograma a los aislamientos de este género bacteriano para la aplicación de una terapia adecuada en las aves.

Consideraciones finales

Aunque se presentaron pocos trabajos relacionados a *Salmonella* spp. en la IV reunión conjunta de Sociedades de Biología de la República Argentina, gracias a los mismos se pudieron conocer los avances sobre el tema de sustancias antibacterianas de la cepa *B. amyloliquefaciens* MEP218, del subextracto DCM de *F. blakeana* y de los AC del género *Shigella* sp. Así también, se avanzó sobre la activación del sistema RcsCDB y como éste afectó negativamente el desarrollo de la biopelícula de *Salmonella* spp., y se conoció el aspecto microbiológico que caracterizaron los pimentones procedentes de 3 sistemas de secado, cultivados en departamento de Santa María, Catamarca. Por otro lado, se presentaron dos trabajos directamente relacionados a avicultura. Uno de ellos describió la fortaleza de los medios de cultivos selectivos-diferenciales en el aislamiento de *Salmonella* spp. de cama de las aves y otro trabajo permitió conocer que, en general, las cepas de *Salmonella* spp., aisladas de granjas avícolas de Tucumán, no presentan multirresistencia a los antibióticos ensayados, pero que la existencia de algunas cepas multirresistentes indica la importancia de realizar el antibiograma a los aislamientos de este género bacteriano para la aplicación de control adecuado en las aves.

Referencias

- Curtis, H; Barnes, S; Schnek, A; Massarini, A. 2008. Biología. Séptima Edición en Español. Editorial MédicaPanamericana. Madrid. España.
- Gast, Richard K. and Robert E. Porter, Jr., 2020. *Salmonella* infections. Pages 719-753 in *Diseases of Poultry*, 14th edition. D. E. Swayne, ed. John Wiley and Sons, Hoboken, New Jersey.
- Madigan, M.T.; Martinko, J.M.; y Parker, J. 2004. Biología de los microorganismos. Prentice Hall, Madrid, España.
- Sociedad Argentina de Biología. 2020. Libro de resumen de la IV reunión conjunta de Sociedades de Biología de la República Argentina. Pp. 294.