



Serotipos de *Salmonella* Aislados del Río Luján, Argentina

R. J. ANSELMO,^{1*} S. VIORA,¹ H. BARRIOS,¹ R. TERRAGNO,² A. ALCAÍN,² Y M. I. CAFFER²

Universidad Nacional de Luján C. C. 221 Código Postal: 6700 Luján, Buenos Aires, Argentina.¹ y
Servicio Enterobacterias, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas "Dr. Carlos G. Malbrán".
Vélez Sarfield 563. Código Postal: 1281. Buenos Aires, Argentina.²

* Autor para la correspondencia a: Tel-Fax : 54-1-303-2382.

ABSTRACT. In this work, the serotypes of *Salmonella* genus polluting the waters of Lujan River, situated in the north east of the province of Buenos Aires, Argentina, were studied. A total of 690 samples of water were collected and analysed from February 1988 through December 1989, at three different sites. They were obtained according to the Moore technique and then preenriched in buffered peptone water and enriched in Rappaport-Vassiliadis Soya peptone broth was carried out. The isolations were realised in brilliant green-desoxycholate agar and bismuth sulphite agar and the presumptive colonies to be *Salmonella* were tested by the standard biochemical identification. *Salmonella* spp. was isolated in 434 samples (62,9 %). The predominant serotype was *S. Anatum*, followed in a decreasing order by *S. Montevideo*, *S. Newport* and *S. Bredeney*. A large amount of serotypes that are isolated with very low frequency and very rarely in other hidric courses of the country were: *S. Westhampton*, *S. Poona* and *S. Saintpaul* were found.

Key Words: *Salmonella*, Superficial waters

RESUMEN. En el presente trabajo, se estudiaron los serotipos del género *Salmonella* contaminantes de las aguas del Río Luján, situado en el noreste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Se analizaron un total de 690 muestras de agua en el período febrero 1988 a diciembre 1989, provenientes de tres sitios de muestreo. Las mismas se obtuvieron según la técnica de Moore y luego se realizó un preenriquecimiento en agua peptona fosfato y un enriquecimiento en caldo Rappaport-Vassiliadis peptona de soya. El aislamiento se efectuó en agar verde brillante-desoxicolato y agar sulfito de bismuto y a las colonias sospechosas de ser *Salmonella* se les realizó la identificación bioquímica estándar. Se aislaron *Salmonella* spp. en 434 muestras (62,9%). La serovariedad predominante fue *S. Anatum*, siguiendo en orden decreciente *S. Montevideo*, *S. Newport* y *S. Bredeney*. Se encontró un gran número de serovariedades que se aíslan con muy baja frecuencia y muy esporádicamente en otros cauces hídricos del país: *S. Westhampton*, *S. Poona* y *S. Saintpaul*.

Palabras clave: *Salmonella*, Aguas superficiales

INTRODUCCION

Las investigaciones bacteriológicas hechas con la finalidad de aislar enterobacterias de aguas de consumo y residuales son numerosas, sobre todo las pertenecientes al género *Salmonella*. Estas se concentraron, durante muchos años, en la búsqueda de *S. Typhi* y *S. Paratyphi B*, descartando las otras serovariedades, como meramente casuales.

Tal orientación para la época se fundamentaba en la prominente importancia de la fiebre tifoidea en la mayoría de los países, como una de las enfermedades de mayor casuística, teniendo la característica epidemiológica de vehiculización hídrica.

Con la revisión de la capacidad patogénica de las salmonelas^{6,8,13} fue demostrada la posición importante y destacada de otros serotipos además del bacilo tífico, como agentes principales de las enteroinfecciones en el hombre; así como, caracterizando la posición de portadores asintomáticos en algunas especies animales.⁷

Por tales motivos, la atención fue despertada en el sentido de hacer una evaluación sistemática de la ocurrencia de estas otras serovariedades de *Salmonella* en las diferentes fuentes de contaminación.

En estos tres últimos decenios se dio un extraordinario impulso al estudio de la incidencia de estos microorganismos, a través de numerosas contribuciones, en varias partes del mundo, que evidenciaban nítidamente una declinación de los casos de fiebre tifoidea y un elevado incremento de las otras salmonelas, tanto de origen humano como animal.

La explicación de éste fenómeno se hizo para ampliar los estudios de las posibles fuentes de infección, buscando primordialmente un mejor conocimiento de la ecología de estos microorganismos. Entre los varios elementos disponibles para tal averiguación, se destacan las aguas cloacales "per se" o vertidas en cursos de agua que proporcionan re-



sultados seguros y capaces de avalar cualitativamente la ocurrencia de *Salmonella* en una determinada colectividad.

El presente trabajo es la continuación de dos estudios anteriores en los cuales se realizó un análisis comparativo de técnicas de detección de *Salmonella* en aguas superficiales¹ y la cuantificación de esta enterobacteria en aguas del Río Luján a fin de tener una estimación del grado de contaminación del río mencionado.³ El objetivo de este trabajo fue estudiar las serovariedades de *Salmonella* predominantes en el Río Luján durante el período febrero de 1988 a diciembre de 1989.

Dicho río nace en la confluencia de los arroyos Durazno y Los Leones en la localidad de Suipacha, a los 59° 37' de longitud Oeste y a los 34° 43' 54" de latitud Sur, y luego avanza, encauzado en una cuenca, atravesando las zonas de Mercedes, Luján, Pilar y Dique Luján, desaguando en el Río de la Plata al norte de la localidad de Tigre (Figura 1).

MATERIALES Y METODOS

En el período comprendido entre febrero de 1988 y diciembre de 1989 se tomaron 690 muestras. Estas fueron recogidas en tres sitios sobre el curso del Río Luján: punto A, en el puente Las Tropas, situado aproximadamente 2 Km aguas arriba de la zona urbana; punto B, en las inmediaciones del puente de la calle Bmé. Mitre, en la misma planta urbana y punto C, pasando la planta depuradora de líquidos cloacales, a 2 Km aguas abajo de la zona urbana.

El muestreo se realizó siguiendo la técnica del pliego de gasa sumergido denominado "hisopo de Moore".¹¹ Se efectuaron 10 tomas mensuales y simultáneas en cada sitio de muestreo. Las gasas se introdujeron en el río de forma que queden a 20 cm de profundidad. Se expusieron 60 min al curso de agua¹ y a continuación se introdujeron en frascos estériles de 500 ml de capacidad, de boca ancha y tapa a rosca. Fueron cultivadas dentro de las 6 h del momento de su extracción.^{5,9}

El preenriquecimiento se hizo en 100 ml de agua peptona fosfato, luego de incubar a 35°C por 24 ± 2 h, se inocu-

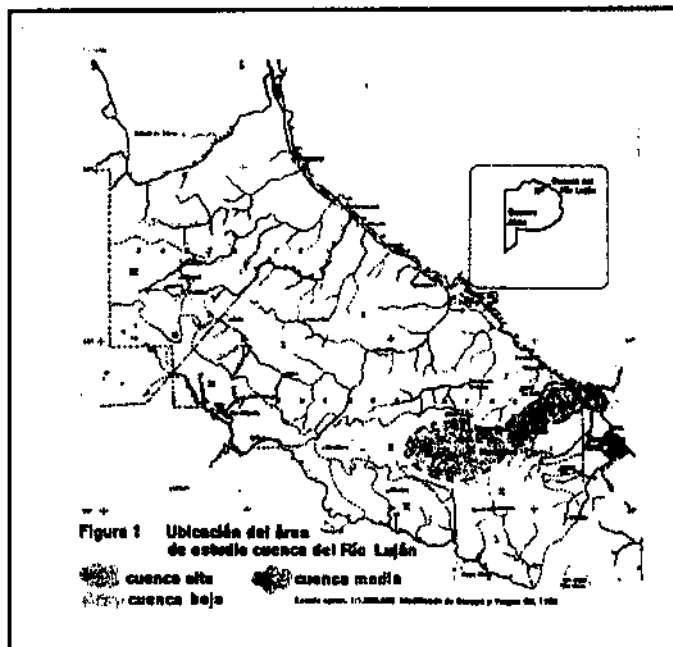


Figura 1 Curso del Río Luján en la provincia de Buenos Aires, Argentina.

ló 1 ml en 100 ml de caldo Rappaport-Vassiliadis-peptona de soya.^{12, 18} Se incubó a 42 ± 0.1 °C por 24 ± 2 h^{13, 16} y se procedió a su aislamiento en agar verde brillante (Oxoid) con 0,25 % de desoxicolato de sodio (Oxoid)¹⁷ y agar sulfito de bismuto (Difco).

Las placas se incubaron a 35°C durante 48 h y se examinaron diariamente en busca de colonias características de *Salmonella*. De cada placa, dos colonias presuntivas se inocularon en agar hierro-tres azúcares TSI (Difco) y agar hierro-lisina LIA (Difco). Las cepas con reacciones bioquímicas de *Salmonella*^{10, 14} se sometieron a pruebas de aglutinación en placa con sueros polivalentes. En la División Enterobacterias del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas "Dr. Carlos G. Malbrán" se completó su identificación antigénica.

Tabla 1. Frecuencia de aislamiento de *Salmonella* en el Curso del Río Luján y distribución de las muestras por punto de muestreo

Muestreo	Nº de muestras estudiadas	Muestras positivas para <i>Salmonella</i>	
		Nº	%
A	230	134	58.3
B	230	140	60.9
C	230	160	69.6
Total	690	434	62.9

^aPunto A: 2 Km aguas arriba de la zona urbana. Punto B: Planta urbana. Punto C: 2 Km aguas abajo de la zona urbana.

Tabla 2. Frecuencia de aislamiento de serovariedades de *Salmonella* durante el período febrero 1988/diciembre 1989, de agua de la cuenca del Río Luján.

Serovariedad	Frecuencia de aislamiento ^a	
	Nº de cepas aisladas ^b	Porcentaje (%)
Anatum	188	12.07
Montevideo	174	11.17
Newport	167	10.72
Bredeney	100	6.42
Derby	96	6.16
Agona	93	5.97
Panama	90	5.78
Infantis	66	4.23
Oranienburg	48	3.08
Livingstone	46	2.95
Senftenberg	41	2.63
Meleagridis	38	2.44
Thyphimurium	38	2.44
Blockley	30	1.92
Enteritidis	29	1.86
4, 5, 12 : i : -	24	1.54
Jos	20	1.28
London	20	1.28
Sandiego	20	1.28
Bovismorbificans	19	1.22
Hadar	19	1.22
Kentucky	16	1.02
Mbandaka	16	1.02
Paratyphi B	16	1.02
IV 18 : Z ₃₆ , Z ₃₈ : -	16	1.02
Tennessee	13	0.83
Carrau	12	0.77
Corvallis	12	0.77
Manhattan	10	0.64
Kottbus	8	0.51
Ohio	8	0.51
6, 7, 14 : - : e, n, Z ₁₅	8	0.51
Belem	7	0.44
Havana	6	0.38
Poona	5	0.32
Give	4	0.25
Heidelberg	4	0.25
Minnesota	4	0.25
Muenchen	4	0.25
Santiago	4	0.25
Westhampton	4	0.25
IV 43 : Z ₄ , Z ₂₃ : -	4	0.25
Saintpaul	3	0.19
Cerro	2	0.12
Choleraesuis	2	0.12
I 6, 7 : - : -	2	0.12
Muenster	1	0.06

^aSobre un total de 690 operaciones de muestreo; ^bSobre un total de 1557 cepas estudiadas.

Tabla 2. Frecuencia (%) de aislamiento de serovariedades de *Salmonella* en el curso del Río Luján, según el sitio de muestreo

Serovariedad	Punto de muestreo ^a		
	A	B	C
Agona	8.73	1.85	6.98
Anatum	15.76	11.05	9.62
Belem	0.42	0.97	0.00
Blockley	1.74	0.77	3.12
Bovismorbificans	0.00	3.34	0.51
Bredeney	8.74	4.28	6.11
Carrau	2.22	0.00	0.00
Cerro	0.00	0.24	0.19
Choleraesuis	0.00	0.45	0.00
Corvallis	0.00	0.78	1.55
Derby	6.42	7.54	4.84
Enteritidis	0.59	1.83	3.11
Give	0.00	0.83	0.00
Hadar	0.61	1.63	1.51
Havana	0.00	1.24	0.00
Heidelberg	0.84	0.00	0.00
Infantis	3.38	6.59	3.02
Jos	3.01	0.82	0.00
Kentucky	1.53	1.65	0.00
Kottbus	0.85	0.85	0.00
Livingstone	4.55	2.91	1.49
London	3.84	0.00	0.00
Manhattan	0.21	0.21	1.54
Mbandaka	1.55	0.00	1.55
Meleagridis	0.00	6.12	1.54
Minnesota	0.00	0.81	0.00
Montevideo	10.40	12.82	10.52
Muenchen	0.21	0.42	0.25
Muenster	0.21	0.00	0.00
Newport	7.64	13.69	11.49
Ohio	0.00	1.65	0.00
Oranienburg	2.25	1.04	5.72
Panama	0.20	2.55	14.28
Paratyphi B	0.83	0.83	1.49
Poona	0.91	0.00	0.00
Saintpaul	0.25	0.25	0.25
Sandiego	2.21	1.65	0.00
Santiago	0.00	0.85	0.00
Senftenberg	2.64	2.49	2.68
Tennessee	0.81	0.99	0.75
Thyphimurium	1.35	1.61	4.19
Westhampton	0.42	0.00	0.42
6, 7, 14 : - : e, n, Z ₁₅	0.00	0.85	0.69
16, 7 : - : -	0.00	0.00	0.39
4, 5, 12 : i : -	3.85	0.81	0.00
IV 18 : Z ₃₆ , Z ₃₈ : -	0.81	1.65	0.74
IV 43 : Z ₄ , Z ₂₃ : -	0.81	0.00	0.00

^aPunto A, 2 Km aguas arriba de la zona urbana-528 cepas estudiadas; Punto B, Planta urbana - 488 cepas estudiadas; Punto C, 2 Km aguas debajo de la zona urbana-541 cepas estudiadas.

RESULTADOS

Se estudiaron 690 muestras de agua, y se aisló *Salmonella* en 434 (62,9 %). La distribución de las muestras según el sitio de muestreo no fue uniforme, sino que se observó un aumento del número de muestras positivas para *Salmonella* en el punto B cuando el río pasa por la ciudad de Luján, y un incremento más llamativo en el punto C luego del pasaje por la planta urbana y por la planta depuradora de líquidos cloacales (Tabla 1).

El análisis de las serovariedades (Tabla 2) muestra que en las 1557 cepas estudiadas se encontraron 47 serovariedades de *Salmonella*. Estas serovariedades se pueden dividir en tres grupos de acuerdo a los porcentajes de aparición. Un grupo está formado por serovariedades con frecuencia de aislamiento entre 12,07 % (*S. Anatum*) y 5,78 % (*S. Panamá*); otro grupo que tiene porcentajes de aparición entre 4,28 % (*S. Infantis*) y 1,02 % (*S. IV 18 : z₃₆, z₃₈ : -*) y finalmente un conjunto de serovariedades de escaso hallazgo, entre 0,83 % (*S. Tennessee*) y 0,06 % (*S. Muenster*).

Considerando las serovariedades según el sitio de muestreo se puede ver (Tabla 3) que se aíslan en mayor porcentaje en:

Punto A: *Anatum*, *Montevideo*, *Agona* y *Bredeney*.

Punto B: *Newport*, *Montevideo*, *Anatum* y *Derby*.

Punto C: *Panamá*, *Newport*, *Montevideo* y *Anatum*.

DISCUSION

Se observa un elevado porcentaje de aislamientos positivos de *Salmonella* en las muestras estudiadas. Debe destacarse que la positividad de las muestras fue incrementándose según el sitio de muestreo, es así que de 134 muestras positivas obtenidas en el punto A se llegó a 160 en el punto C, lo que permite apreciar la incidencia que tiene atravesar la ciudad de Luján sobre la contaminación del río homónimo (Tabla 1).

El procedimiento microbiológico aplicado surgió después de realizar un estudio comparativo de técnicas de detección de salmonelas en aguas del río Luján¹. Cabe destacarse la importancia que cumple la utilización del caldo Rappaport-Vassiliadis-peptona de soya como medio de enriquecimiento selectivo debido a que permitió descubrir mayor positividad de muestras y gran diversidad de serovariedades, algunas de las cuales se hallan con baja frecuencia en cursos hídricos del país: *S. Westhampton*, *S. Poona* y *S. Saintpaul*.

Los resultados obtenidos revelan la elevada contaminación fecal de las aguas de dicho río, corroborado por un estudio paralelo a éste consistente en la cuantificación de salmonelas según la técnica del Número Más Probable³ donde se llegó a 460 salmonelas/l en el punto B (centro urbano) en noviembre de 1989.

Cabe acotarse que en marzo de 1990, en un colegio pri-

vado con comedor escolar situado a aproximadamente 1 Km del río Luján, se produjo un brote de infección alimentaria siendo el agente causal *Salmonella* Enteritidis. En el mismo fueron afectadas 40 personas entre estudiantes primarios, docentes y no docentes del establecimiento.² Además en octubre de 1990 ocurrió otro brote de origen alimentario por *Salmonella* Enteritidis en una localidad vecina a la ciudad de Luján. El mismo se produjo en una panadería y confitería resultando afectadas 16 personas.⁴

Todo lo enunciado precedentemente pone nuevamente en evidencia la constante contaminación de las aguas superficiales con el consiguiente peligro permanente para la salud pública de la población.

AGRADECIMIENTO

A la Dra. Silvia C. Michanie por la revisión crítica del manuscrito y sugerencias.

REFERENCIAS

1. Anselmo, R. J., H. Barrios, S. Viora, B. Llorente, T. Eiguer, M. I. Caffer y E. Fliess. 1989. Estudio comparativo de cuatro métodos de aislamiento de salmonelas de aguas superficiales. *Rev. Arg. Microbiol.* 21:127-132.
2. Anselmo, R. J., G. A. Ruzo, B. Llorente, H. Barrios, M. I. Caffer, G. Schembri, T. Eiguer y E. Fliess. 1990. Estudio de un brote de infección alimentaria por *Salmonella* Enteritidis. *Rev. Infect. y Microbiol. Clín.* 2:66-68.
3. Anselmo, R. J., H. Barrios, S. Viora y M. I. Caffer. 1991. Aislamiento y cuantificación de salmonelas de aguas del Río Luján. *Rev. Arg. Microbiol.* 23:204-210.
4. Anselmo, R. J., S. Viora, H. Barrios y M. I. Caffer. 1991. Brote de enfermedad transmitida por alimentos por *Salmonella* Enteritidis. *Rev. Infect. y Microbiol. Clín.* 3:90-91.
5. A.P.H.A., A.W.W.A., W.X.P.F. 1971. *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 13ª. Ed. Washington.
6. Binsztein, N., T. Eiguer y M. D'Empaire. 1982. Epidemia de salmonelosis en Buenos Aires y sus alrededores. *Medicina (Bs. As.)* 42:161-167.
7. Blaser, M., B. Rafuse y J. Wells. 1981. An outbreak of salmonellosis involving multiple vehicles. *Am. J. Epidemiol.* 114:663-670.
8. Eiguer, T., N. Binsztein y G. Spizzamiglio. 1980. Infecciones gastrointestinales agudas en la infancia. *Arch. Arg. Ped.* 78:354-362.
9. Hoben, D. A., D. H. Ashton y A. C. Peterson. 1973. Some observations on the incorporation of novobiocin into Hektoen enteric agar for improved *Salmonella* isolation. *Appl. Microbiol.* 26:126-127.
10. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1982. *Microorganismos de los Ali-*



- mentos I. Técnicas de análisis microbiológico. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
11. Moore, B. 1948. The detection of paratyphoid carriers in towns by means of sewage examination. *Monthly Bull. Minist. Hlth. (Lond.)*. 7:241-248.
 12. Morifigo, M. A., J. J. Borrego y P. Romero. 1986. Comparative study of different methods for detection and enumeration of *Salmonella* spp. in natural waters. *J. Appl. Bacteriol.* 61:169-176.
 13. Organización Mundial de la Salud. 1978-1980. Programa de Control de enfermedades diarreicas. Informe de grupos científicos de trabajo.
 14. Speck, M. (ed). 1976. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association, Washington, DC.
 15. Van Schothorst, M. y A. M. Renauld. 1983. Dynamics of *Salmonella* isolation with modified Rappaport's medium (R10). *J. Appl. Bacteriol.* 54:209-215.
 16. Van Schothorst, M., A. M. Renauld y C. van Beek. 1987. Rappaport-Vassiliadis soya peptone broth, a selective enrichment broth for the isolation of salmonellae. *Food Microbiol.* 4:11-18.
 17. Vassiliadis, P., D. Trichopoulos, J. Papadakis, V. Kalapothaki y CH Serie. 1979. Brilliant green desoxycholate agar as an improved selective medium for the isolation of *Salmonella*. *Ann. Soc. Berge Méd. Trop.* 59:117-120.
 18. Vassiliadis, P. 1983. The Rappaport – Vassiliadis (RV) enrichment medium for the isolation of *Salmonella*: An overview. *J. Appl. Bacteriol.* 54:69-76.