

Evaluación de la virulencia y serotipos de *Streptococcus suis* aislados de trabajadores de rastros en el valle de Toluca, Estado de México, México

Martín Talavera Rojas*
Marcelo Gottschalk**
Valente Velázquez Ordóñez*

Abstract

Streptococcus suis represents a potential zoonosis risk in farms and slaughterhouse workers that manage pigs or its products directly. The purpose of this study was to determine virulence and serotypes of *Streptococcus suis* involved in high risk areas in four municipal slaughterhouses (Mexicaltzingo, Ocoyoacac, Toluca and San Pablo Autopan) in the valley of Toluca in the State of Mexico. Samples were taken from all workers in each specific area of the slaughterhouses giving a total of $n=69$; cotton swab samples were taken from tonsils for isolation, and bacteriological identification of *Streptococcus suis* by bacteriological and biochemical procedures. Evaluation of virulence was carried out using a murine model, and serotyping was made by coagglutination. Evaluation of results was analyzed with non parametric statistics (chi square) with $P < 0.05$. Isolation of *Streptococcus suis* was obtained in each studied slaughterhouse (4 strains, 5.7%). Strains were classified as medium- and highly virulent reaching a mortality in mice from 45% to 80%. Serotypes found were 2 and 27, and two strains were not typed. Virulence of human isolated strains in these slaughterhouses was higher than the one used as the reference. In the case of serotype 27 strain, it can be claimed that this is the first world report in human beings, and that the two non typed strains could probably account for new serotypes.

Key words: *STREPTOCOCCUS SUIIS*, HUMAN BEINGS, PREVALENCE, VIRULENCE, SEROTYPES, SLAUGHTERHOUSES.

Resumen

El propósito de este estudio fue aislar y determinar la virulencia y serotipos involucrados de *Streptococcus suis* en trabajadores con diferentes niveles de riesgo en cuatro rastros municipales (Mexicaltzingo, Ocoyoacac, Toluca y San Pablo Autopan) ubicados en el valle de Toluca, Estado de México, México. El muestreo se realizó al 100% de los trabajadores en cada rastro ubicados en el área de cerdos, dando un total de $n = 69$, a estos últimos se les tomaron hisopos de amígdalas para el aislamiento e identificación bacteriológica de *Streptococcus suis*, mediante procedimientos bioquímicos de bacteriología; la evaluación de la virulencia se realizó utilizando un modelo murino y la serotipificación mediante la técnica de coaglutinación. La evaluación de los resultados se analizó con estadística no paramétrica (Ji-cuadrada) con una significancia de $P < 0.05$. Se obtuvieron cuatro (5.7%) aislamientos de *Streptococcus suis*, encontrando una cepa por cada rastro estudiado. Las cepas fueron clasificadas como mediana y altamente virulentas, dando una mortalidad de 45% a 80%. Los serotipos encontrados fueron el 2 y 27, mientras que en dos cepas no se identificó ningún serotipo. La

Recibido el 17 de enero de 2001 y aceptado el 18 de abril de 2001.

* Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Apartado Postal 421, C.P. 50000, Toluca, Estado de México, México.

** Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, Montréal 3200 Sicotte, St. Hyacinthe Québec, Canadá.

Autor responsable: Martín Talavera Rojas, Calle Samuel López Sierra 22, Col. Isidro Fabela, Atlacomulco, Estado de México, México, 50450, Tel. (712) 245-35, Fax (729) 655-55, E-mail: talavera@mailcity.com

virulencia de las cepas aisladas de humanos en estos rastros fue mayor que las utilizadas como referencia. En el caso de la cepa serotipo 27, este es el primer informe en el ámbito mundial de este serotipo que se presenta en humanos, además de que las dos cepas donde no se identificó el serotipo pueden tratarse de serotipos nuevos.

Palabras clave: *STREPTOCOCCUS SUIIS*, HUMANOS, PREVALENCIA, VIRULENCIA, SEROTIPOS, RASTRO.

Introducción

Hasta el momento se conocen 35 serotipos de *S. suis*, denominados del 1 al 34 y uno $\frac{1}{2}$, de los cuales el número 2 se ha reconocido como el más frecuente en cerdos enfermos y clínicamente sanos.¹⁻³ La infección producida por *S. suis* en cerdos produce neumonía, poliserositis, endocarditis, artritis y meningitis, principalmente en lechones desde las dos semanas de edad, pero es más común en cerdos recién destetados.^{3,4}

S. suis es considerado en Hong Kong, Canadá, Holanda, Francia, Inglaterra, Nueva Zelanda, Bélgica y Alemania, como un importante agente zoonótico; se considera que el serotipo 2 es la causa más común de meningitis en humanos,^{3,5-7} sobre todo en granjeros, carniceros, trabajadores de rastro, personal de industrias cárnicas y médicos veterinarios.⁸ Sin embargo, existen otros países donde no se ha notificado *S. suis* como agente zoonótico debido a que la enfermedad es subdiagnosticada o es confundida con otros agentes.⁹ Tal es el caso de México, donde no existen informes de meningitis por *Streptococcus suis* en humanos.

Se han utilizado animales de laboratorio para determinar la patogénesis y virulencia de diferentes cepas de *Streptococcus suis*; los ratones son la especie más propicia para este tipo de análisis.¹⁰

La prevención de la infección se basa en el uso y limpieza de los instrumentos de trabajo, protección de heridas de las manos, utilización de guantes y equipo de protección personal para las personas que están en contacto con cerdos.¹¹

Material y métodos

Los objetivos del presente trabajo fueron, determinar la virulencia de *S. suis* aislado de trabajadores de los rastros municipales de Toluca, Mexicaltzingo, Ocoyoacac y San Pablo Autopan, Estado de México, México, y conocer cuáles son los serotipos involucrados en el personal que labora en estos rastros.

Para realizar el muestreo se consideró solamente a los trabajadores que laboran en el área de cerdos, ubicados en las diferentes fases de matanza. Mediante un listado nominal se realizó una subclasificación y sorteo aleatorio por áreas de matanza, ponderando las

de mayor riesgo;⁸ es decir, en riesgo alto (eviscerado y lavado de vísceras), riesgo medio (escaldado y lavado de canal), y riesgo bajo (corrales y desollado) de acuerdo con la metodología propuesta en la conferencia de salud, seguridad e higiene en el trabajo, para la determinación del grado de riesgo en empresas.¹²

Las muestras fueron tomadas con hisopos estériles de la superficie de amígdalas. Los hisopados fueron colocados en medio de transporte de Stuart y transportados a 4°C al laboratorio del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, donde se realizó el aislamiento y la identificación bacteriológica de acuerdo con el protocolo de identificación bioquímico.^{5,13}

Para la evaluación de la virulencia, las cepas fueron cultivadas en caldo Todd-Hewitt, ajustando a una concentración de 10^8 UFC/ml e inoculadas intraperitonealmente a un grupo de diez ratones de la línea CD1 de 28 días de edad con dos repeticiones; es decir, 20 ratones por tratamiento y se registró la mortalidad durante un periodo de siete días; se usaron dos cepas de referencia como testigo, S735 y D282. Para establecer el grado de virulencia se tomó en cuenta el porcentaje de mortalidad, clasificándose como altamente virulentos (ALV) de 70% a 100%, medianamente virulentos (MV) de 20% a 60% y avirulentos (AV) menos de 20%.¹⁰

La serotipificación se realizó mediante la técnica de coaglutinación en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Montreal, St. Hyacinthe Québec, Canadá.¹

Se utilizó un diseño de bloques al azar tomando cada cepa aislada como tratamiento con dos repeticiones cada una. Los resultados fueron analizados con una prueba estadística no paramétrica, Ji-cuadrada, con independencia de tratamientos y una significancia estadística de $P < 0.05$.

Resultados

La distribución de los 69 trabajadores muestreados y el número de aislamientos de acuerdo con el rastro de origen se muestran en el Cuadro 1.

Los trabajadores se clasificaron según el grado de riesgo, de acuerdo con la distribución y área de trabajo en los rastros del valle de Toluca, en forma global fueron: 13 en riesgo bajo, 24 en riesgo medio y 32 en riesgo alto (Cuadro 1) ($P > 0.05$).

Los serotipos encontrados en las cepas de *S. suis* fueron el número 27 en el rastro de San Pablo Auto-pan; el número 2 en Toluca; y una cepa en Ocoyoacac y Mexicaltzingo, respectivamente, que no pudieron ser tipificadas, ya que no reaccionaron con ninguno de los 35 serotipos conocidos hasta el momento (Cuadro 2).

Las cepas de referencia S735 y D282 mostraron 40% y 60% de mortalidad, respectivamente; fueron clasificadas como MV, mientras las cepas de origen humano, 13GM, 8GT, 9GS y 5GO, mostraron 60%, 65%, 45% y 80% de mortalidad, respectivamente, y fueron clasificadas como MV y ALV (Cuadro 3) ($P > 0.05$).

Discusión

Debido a la falta de informes sobre el *S. suis*, en muchos países, aparentemente no representa un problema en la salud pública, ya que la enfermedad es subdiagnosticada,⁵ o bien es confundida con otras causas. No obstante para 1986 se notificaron 44 casos en Dinamarca, Nueva Zelanda, Francia y Hong Kong, de los cuales 90% de las personas afectadas habían tenido contacto con cerdos;¹⁴ recientemente se describió un caso en Tailandia,¹⁵ lo que demuestra que granjeros, carnice-ros, personal de industrias cárnicas, médicos veterinarios y trabajadores de rastro, presentan mayor riesgo de adquirir la infección.⁸

Los cuatro aislamientos obtenidos de los trabajado-res, provienen de amígdalas de personas que no pre-sentaban manifestaciones clínicas. Con base en la de-finición dada por Kumate *et al.*,¹⁶ donde el portador es aquella persona que no presenta manifestaciones clí-nicas de una enfermedad y que sólo se puede demos-trar aislando e identificando el agente infeccioso, se puede considerar que las personas a las que se les aisló *Streptococcus suis* son portadores que pueden propa-gar el agente infeccioso y actuar como fuente de infec-ción, sin olvidar que todo portador puede ser atacado por el microorganismo cuando su resistencia disminu-ye por enfermedades intercurrentes, inmunosupreso-ras, desnutrición u otros factores.¹⁷

En un estudio realizado por Breton *et al.*,⁸ en traba-jadores de rastro, se encontró mayor frecuencia de *S. suis* en el área de eviscerado, considerándola como la de mayor riesgo de infección debido a la predisposi-ción a accidentes con objetos punzocortantes y exposi-ción a vísceras de cerdo.¹⁸ Lo anterior aunado al regla-mento para la clasificación de empresas y determina-ción del grado de riesgo,⁹ permitió clasificar las áreas de trabajo en tres clases, de menor a mayor riesgo (bajo, medio, alto) de acuerdo con la actividad que desarrollan los trabajadores. En este estudio se encon-tró la mayor frecuencia de aislamientos en el área de lavado y escaldado (riesgo medio), sin que se coinci-diera con lo encontrado por Breton *et al.*,⁸ sin embargo, se cree que esto último sucede porque los trabajadores en estos rastros son constantemente cambiados de área sin ningún control de estos movimientos, lo que implica que todos los trabajadores están expuestos a la infección. Esto pudiera explicar que no se hayan en-

Cuadro 1
NÚMERO DE AISLAMIENTOS Y GRADO DE RIESGO EN LOS TRABAJADORES POR ÁREA DE TRABAJO EN RASTROS DEL VALLE DE TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

Grado de riesgo	Toluca		Mexicaltzingo		Ocoyoacac		SPA		Total de trabajadores	Aisl. de <i>S. suis</i>
	Núm.	(i)	Núm.	(i)	Núm.	(i)	Núm.	(i)		
Bajo	2	(3.0)	4	(3.9)	3	(2.2)	4	(2.2)	13	1
Medio	4	(5.5)	11	(7.2)	5	(4.1)	4	(4.1)	24	2
Alto	9	(7.3)	6	(9.6)	4	(5.5)	13	(5.5)	32	1
Total	15		21		12		21		69	4

(i) valor esperado

$\chi^2 = P > 0.05$

Nota: Riesgo bajo: Integrado por las áreas de corrales y desollado; riesgo medio: Áreas de escaldado y lavado de canal; riesgo alto: Áreas de eviscerado y lavado de vísceras.

Cuadro 2

SEROTIPOS ENCONTRADOS EN CEPAS DE *Streptococcus suis* AISLADAS DE TRABAJADORES DE RASTROS DEL VALLE DE TOLUCA ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

Clasificación de las cepas	Serotipo
S735	2
D282	1/2
13GM	No tipificada
8GT	2
9GS	27
5GO	No tipificable

S735 = Cepa de referencia; D282 = Cepa de referencia; 13GM = Origen Mexicaltzingo; 8GT = Origen Toluca; 9GS = Origen San Pablo Autopan; 5GO = Origen Ocoyoacac.

contrado diferencias estadísticas entre la distribución de los riesgos y la virulencia de las cepas.

La enfermedad es generalmente de tipo ocupacional, ya que la mayoría de los informes son de personas que han tenido contacto con cerdos o sus productos. El personal de donde se aislaron estas cepas son clínicamente sanas, pero actúan como portadoras, quedando de manifiesto la importancia de la zoonosis.¹⁶

El serotipo más frecuentemente aislado de casos de humanos es el número 2. En este estudio se encontró una cepa correspondiente al serotipo número 2 y otra al serotipo número 27; se considera muy importante este hallazgo en virtud de que constituye el primer

informe en el ámbito mundial de este serotipo en humanos. Las otras dos cepas resultaron no tipificables, por lo que suponemos que se trata de serotipos nuevos; sin embargo, es necesario realizar pruebas adicionales para corroborarlo.

Agradecimientos

Se agradece especialmente al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, de México, el financiamiento a este proyecto de investigación con número de referencia 28209M.

Referencias

- Higgins R, Gottschalk M, Boudreau M, Lebrum A, Henrichsen J. Description of six new capsular types (29-34) of *Streptococcus suis*. J Vet Diagn Invest 1995;7:405-406.
- Robertson ID, Blackmore DK. The detection of pigs carrying *Streptococcus suis* type 2. NZ Vet J 1987;35:1-4.
- Wisselink HJ, Smith HE, Stockhofe-Zurwieden N, Peperkamp K, Vecht V. Distribution of capsular types and production of muramidase-released protein (MRP) and extracellular factor (EF) of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased pigs in seven European countries. Vet Microbiol 2000;74:237-248.
- Clifton-Hadley FA. Studies of *Streptococcus suis* type 2 infection in pigs. Vet Res Comm 1984;8:217-227.
- Chau P, Huang CY, Ray R. *Streptococcus suis* meningitis. Med J Austr 1983;1:414-417.
- Robertson ID, Blackmore DK. Occupational exposure to *Streptococcus suis* type 2. Epidemiol Inf 1989;103:157-164.
- Trottier S, Higgins R, Brouchu G, Gottschalk M. A case of human endocarditis due to *Streptococcus suis* in North America. Rev Infect Dis 1991;13:1251-1252.

Cuadro 3

GRADO DE VIRULENCIA Y SEROTIPOS EN CEPAS DE *Streptococcus suis* AISLADAS DE CUATRO RASTROS DEL VALLE DE TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

Identificación de la cepa	Porcentaje de mortalidad		Clasificación
	Primera repetición	Segunda repetición	
S735	40	40	MV
D282	60	60	MV
13GM	60	60	MV
8GT	50	80	MV
9GS	60	30	MV
5GO	90	70	ALV

P > 0.05; MV = Medianamente virulentas; ALV = Altamente virulentas.

8. Breton J, Mitchell WR, Rosendal S. *Streptococcus suis* in slaughter pigs and abattoir workers. Can J Vet Res 1986;50:338-341.
9. Arends JP, Zanen HC. Meningitis caused by *Streptococcus suis* in humans. Rev Infect Dis 1988;10:131-137.
10. Robertson ID, Blackmore DK. Experimental studies on the comparative infectivity and pathogenicity of *Streptococcus suis* type 2. II Porcine and human isolates in laboratory animals. Epidemiol Infect 1990;105:479-484.
11. Clarke D, Almeyda J, Ramsay I, Draqbu YJ. Primary prevention of *Streptococcus suis* meningitis. Lancet 1991;338:1147-1148.
12. Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Seguridad e higiene en el trabajo. México (DF): Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), 1996.
13. Chanter N, Jones PW, Alexander TJ. Meningitis in pigs caused by *Streptococcus suis* - a speculative review. Vet Microbiol 1993;36:39-55.
14. Lutticken R, Temme N, Hahn G, Barthelhermer EW. Meningitis caused by *Streptococcus suis* - case report and review of the literature. Infection 1986;14:181-185.
15. Chotmongkol V, JanmJ, Kawamatawong T. *Streptococcus suis* meningitis: report of a case. J Med Assoc Thai 1999;82:922-924.
16. Kumate J, Gutiérrez G. Manual de infectología. 6a ed. México (D.F.): Edición Médica del Hospital Infantil de México, 1978.
17. Robbins SL. Patología estructural y funcional. México (DF): Interamericana, 1975.
18. Clifton-Hadley FA. *Streptococcus suis* type 2 infections. Br Vet J 1983;139:1-5.