

Introducción de una técnica de tamizaje para la identificación de *Salmonella* spp. en aguas superficiales. La Habana, 2015

Batista Gutiérrez, Lourdes¹
González González, María Isabel²
Rosado García, Félix Manuel³
Villar Saavedra, Alejandro⁴
Díaz Barcelay, Silvia⁵

¹ Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología (INHEM), Dpto. Microbiología, La Habana, Cuba, lourdes@inhem.sld.cu

² INHEM, Dpto. Microbiología, La Habana, Cuba, mariaisabel@infomed.sld.cu

³ INHEM, Dpto. Microbiología, La Habana, Cuba, felixmrg@inhem.sld.cu

⁴ INHEM, Dpto. Ciencia e Innovación, La Habana, Cuba, alex@inhem.sld.cu

⁵ INHEM, Dpto. Microbiología, La Habana, Cuba, silviadb@inhem.sld.cu

Resumen:

Introducción: *Salmonella* spp. es uno de los patógenos más estudiados y responsable de enfermedades de transmisión hídrica. La detección temprana prevendría la aparición de brotes y permitiría la toma de decisiones en salud pública. Las pruebas rápidas ofrecen detección, identificación o enumeración de microorganismos en tiempos cortos y con metodologías sencillas respecto a los métodos convencionales.

Objetivos: Introducir una técnica de tamizaje para la identificación de *Salmonella* spp. en muestras de aguas mediante ensayos inmunoenzimáticos.

Metodología: Se realizó un estudio de desarrollo y evaluación tecnológica durante abril - julio 2015 para lo cual se utilizó el paquete comercial RIDASCREEN *Salmonella*. Se tuvo en cuenta dos tipos de escenarios para el análisis de las muestras.

Resultados: El 100% de las muestras fueron positivas en el escenario uno no así en el escenario dos donde solo el 72% de las muestras fueron positivas con el uso del Kit RIDASCREEN; sin embargo, con el uso del método convencional solo el 50% de las muestras del escenario dos fueron positivas. El Kit demostró una sensibilidad de 100% y una especificidad de 56%, la fuerza de concordancia del método fue valorada como moderada.

Conclusión: El método RIDASCREEN *Salmonella* mostró ser un método sensible para el diagnóstico de *Salmonella* spp en muestras de agua en diferentes escenarios, aunque poco específico. Los resultados obtenidos confirman que es un método de detección rápida y útil para el tamizaje inicial de muestras de agua en comparación con el método convencional.

Palabras clave: *Salmonella*, aguas superficiales, métodos rápidos, ELISA.

I. INTRODUCCIÓN

Salmonella spp. es uno de los patógenos más estudiados y responsable de enfermedades de transmisión hídrica. La detección temprana prevendría la aparición de brotes y permitiría la toma de decisiones en salud pública. Las pruebas rápidas ofrecen detección, identificación o enumeración de microorganismos en tiempos cortos y con metodologías sencillas respecto a los métodos convencionales.

El objetivo de este estudio es introducir una técnica de tamizaje para la identificación de *Salmonella* spp. en muestras de aguas mediante ensayos inmunoenzimáticos.

II. MÉTODO

Se realizó un estudio de desarrollo y evaluación tecnológica con el uso de muestras provenientes de aguas superficiales de La Habana durante el período abril - agosto de 2015. El estudio se llevó a cabo en seis ríos de La Habana: Río Quibú, Almendares, Santa Ana, Cojímar, Guanabo y Bacuranao. Se procesaron mediante el método inmunoenzimático ELISA; KIT- RIDASCREEN *Salmonella* y por las técnicas convencionales para el análisis cualitativo de *Salmonella* spp. según APHA (2012) y PNO-*Salmonella* del laboratorio de microbiología sección de aguas INHEM (figura.1).

Se tuvo en cuenta dos tipos de escenarios para el análisis de las muestras:

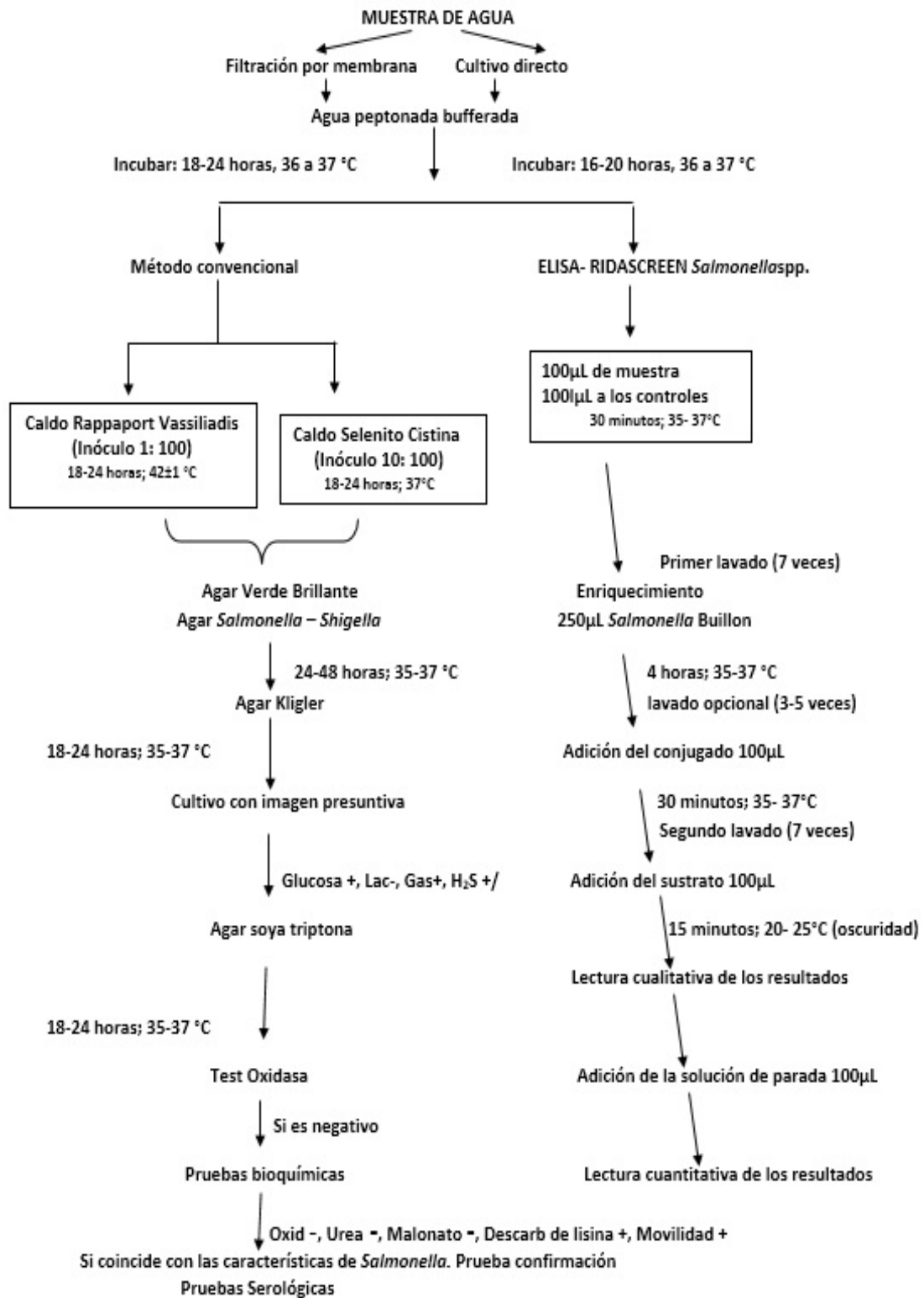
Escenario 1: Estuvo formado por una serie de pruebas replicadas utilizando un panel de diluciones a partir de tres cepas ATCC del género *Salmonella* (*Salmonella typhimurium* ATCC.14028, *Salmonella enteritidis* ATCC. 13076, *Salmonella arizonae* cepa salvaje). (6 diluciones).

Escenario 2: Muestras procedentes de los ríos anteriormente señalados.

Además, se estimó la posible existencia de reacción cruzada con un microorganismo que presenta semejanza antigénica con el género *Salmonella* spp. Para este fin se utilizó una cepa de *Citrobacter freundii* pura y en diluciones de 10^{-1} hasta 10^{-6} .

Esta investigación fue parte de un proyecto institucional llevado a cabo por el INHEM y fue evaluado y aprobado por el Comité de ética. Se veló por el cumplimiento y respeto estricto de las normativas o procedimientos de laboratorio. Los resultados de las muestras fueron utilizados con fines docentes y solo se les informaron a las autoridades sanitarias correspondientes.

Figura 1. Flujograma de trabajo



III. RESULTADOS

El 100% de las muestras analizadas por el Kit de ELISA RIDASCREEN Salmonella fueron positivas en el escenario uno; sin embargo, en el escenario dos, solo el 72% de las muestras.

El 100% de las muestras analizadas por el método convencional mostraron presencia de Salmonella spp. en el escenario uno y solo el 50% de las muestras lo hicieron en el escenario dos (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación de los resultados obtenidos del Kit RIDASCREEN Salmonella y el método convencional en dos tipos de escenario

Método ELISA	Escenario 1		Escenario 2	
	No. Muestras Analizadas	% de muestras	No. Muestras Analizadas	% de muestras
Negativas	0	-	14	28,0
Positivas	18	100,0	36	72,0
Total	18	100,0	50	100,0
Método Convencional				
Presencia	18	100,0	25,0	50,0
Ausencia	-	-	25,0	50,0
Total	18	100,0	50,0	100,0

Tabla 2. Tablas de contingencias comparativas entre los resultados del método convencional y ELISA en la detección de *Salmonella*

		Resultados del Método Convencional			
		Presencia		Ausencia	
		No.	%	No.	%
Resultado del Método ELISA	Prueba positiva	25	100,0	11	44,0
	Prueba negativa	0	-	14	56,0
	Total	25	100,0	25	100,0
Sensibilidad=fracción de verdaderos positivos		100,0%			
Especificidad=fracción de falsos positivos		56,0%			
Kappa=fuerza de concordancia		0.56			
VPP= valor predictivo positivo		69,4%			
VPN= valor predictivo negativo		100,0%			

IV. CONCLUSIONES

El método RIDASCREEN Salmonella mostró ser un método sensible para el diagnóstico de Salmonella spp en muestras de agua, aunque poco específico. Los resultados obtenidos confirman que es un método de detección rápida y útil para el tamizaje inicial de muestras de agua en comparación con el método convencional.

REFERENCIAS

1. Arrellano Aguilar O, Ortega Elorza L, Gesundheit Montero P. Estudio de la contaminación en la cuenca del río Santiago y la salud pública en la región. Julio, México DF. [Internet]. 2012 [Citado: 6 julio 2015]; Disponible en: http://www.greenpeace.org/mexico/global/mexico/report/2012/9/informe_toxicos_rio_santiago.pdf
2. Crim SM, Iwamoto M, Huang JY, Griffin PM, Gilliss D, Cronquist, et al. Incidence and Trends of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food — Food borne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2006-2013. Morbidity and Mortality Weekly Report [Internet]. 2014; 63(15):328-32. Available from: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6315a3.htm>
3. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson M-A, Roy SL, et al. Food borne Illness Acquired in the United States—major pathogens. Rev Emerg Infect Dis 2011; 17(1):7-15 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3375761/>
4. Junta de Andalucía. Delegación de Medio ambiente. Protocolo de vigilancia y alerta de salmonelosis. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. [Internet]. 2012 [citado: 20 febrero 2015]. Disponible en: http://www.juntadeandalucia.es/salud/export/sites/csald/galerias/documentos/p_4_p_1_vigilancia_de_la_salud/protocolos_actuacion_2012/pr_salmonelosis12.pdf
5. St Louis ME, DL Morse, ME Potter, TM DeMelfi, JJ Guzewich, RV Tauxe, et. al. The Emergence of grade A eggs as a major source of Salmonella enteritidis infections: new implications for the control of salmonellosis. JAMA. [Internet]. 1988 [cited: 2015 Feb 20]; 259(14): 2103-107. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=371461>
6. Rincón Acero D P, Ramírez Rueda R Y, Vargas Medina J C. Transmisión de Salmonella entérica a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. Rev. Salud UIS. [Internet]. 2011 [citado: 20 ene. 2015]; Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/suis/v43n2/v43n2a08.pdf>
7. Robledo López A. Investigación de Salmonella spp. en alimentos mediante el método tradicional ISO 6579 y dos métodos inmunoenzimáticos. [Tesis]: Universidad Politécnica de Catalunya (ESAB) [Internet]. 2015 [citado: 8 agos. 2015]; Disponible en: <http://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/26111/memoria.pdf>
8. Havelaar A, Blumenthal U J, Strauss M, Kay D, Bartram J. Guidelines: the current position. In: Fewtrell L, Bartram J, eds. Water Quality: guidelines, Standards and Health. Assessment of risk and risk management for water-related infectious diseases. London: IWA-Publishing; 2001.p. 440.
9. Fundora Hernández H, Puig Peña Y, Chiroles Rubalcaba S, Rodríguez Bertheau A M, Gallardo Díaz J, Milián Samper Y. Métodos inmunológicos utilizados en la identificación rápida de bacterias y protozoarios en aguas. Rev Cubana de Higiene y Epidemiología. [Internet]. 2013 [citado: 20 ene. 2015];

51 (1): 84-96 Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S1561-30032013000100009&lng=es&nrm=iso&tlng=es

10. dos Santos A, Lameiro K, Chemello D, Tondo EC, Zacchia MA, Guimarães JA. Evaluation of an indirect ELISA for the detection of Salmonella in chicken meat. Brazilian Journal of Microbiology . [Internet].2006 [cited: 2015 Feb 20]; 37:[About 9p.]. Available from:http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151783822006000300027&script=sci_arttext

11. Oficina Nacional de Normalización. Agua Potable-Requisitos Sanitarios.2 ed. Cuba, NC 827. (2012).

12. R-Biopharm AG, KIT- RIDASCREEN Salmonella - método inmunoenzimático para la detección de Salmonella spp. en alimentos y muestras ambientales. (Art. No.R4201) producido en R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany Certificado y Validado por AFNOR siguiendo las NF ISO – 16140 R-Biopharm AG.(2003) [Internet].2003 [citado: 8 agos. 2015]Disponible en: http://nf-validation.afnor.org/en/wp-content/uploads/sites/2/2014/03/RBP-31-01-06-08_en.pdf

13. Chabalina L, Beltrán González J. Contaminación marina en bahías y zonas costeras de Cuba y del gran Caribe. Cuba [Internet]. [citado: 8 julio 2015]; Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/caliagua/peru/cubcca005.pdf>

14. Comportamiento de los microorganismos en el agua subterránea. En: Conceptos básicos de Microbiología sanitaria. [Internet]. [citado 14 ago. 2015]. Disponible en:http://aguas.igme.es/igme/publica/pdflib8/3_comporta.pdf

15. Bayona M, Celemin J, Contreras G. Prevalencia de Salmonella spp., en niños de jardines infantiles de una localidad de Bogotá, Colombia. Rev Venezolana de Salud Pública. [Internet]. 2014 [citado: 6 julio 2015]; 2(1): 9-13. Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4769551>

16. Hernández Zárate G. Determinación de microorganismos contaminantes del agua. [Internet]. 2010 [citado: 6 julio 2015]. Disponible en: http://www.uv.mx/apps/agronomia/TMRN/conferencias_files/Dra.%20Galdy%20Hdez%20Zarate%20Ciclo%20UV%202012.pdf

17. Robledo López A. Investigación de Salmonella spp. en alimentos mediante el método tradicional ISO 6579 y dos métodos inmunoenzimáticos. [Tesis]: Universidad Politécnica de Catalunya (ESAB) [Internet]. 2015 [citado: 8 agos. 2015]; Disponible en: <http://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/26111/memoria.pdf>

18. dos Santos A, Lameiro K, Chemello D, Tondo EC, Zacchia MA, Guimarães JA. Evaluation of an indirect ELISA for the detection of Salmonella in chicken meat. Brazilian Journal of Microbiology . [Internet].2006 [cited: 2015 Feb 20]; 37:[About 9p.]. Available from:http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151783822006000300027&script=sci_arttext

19. Plaza Ibarra LA. Análisis microbiológico en quesos frescos que se expenden en supermercados de la ciudad de Guayaquil, determinando la presencia y ausencia de Listeria y Salmonella. [Tesis]. [Internet].Guayaquil: Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción Ecuador; 2013 [citado: 6 julio 2015]. Disponible en: <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1520/1/T1416.pdf>

20. Martín de Santos R.Métodos rápido y automatizado aplicado al análisis microbiológico de los alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. [Internet].2010 [citado: 6 julio 2015]. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/view/1108/1125>

21. Fundora Hernández H, Pereda Lamela G, Batista Gutiérrez L, Leyva Castillo V, González González M I. Introducción de una técnica de tamizaje para la identificación presuntiva de *Salmonella* spp. en muestras de aguas y alimentos. Infohem.[CD-ROM] jul-sep 2014[citado: 6 julio 2015];12(3):

22. González Pedraza J, Pereira Sanandres N, Soto Varela Z, Hernández Aguirre E, Villarreal Camacho J. Aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. y herramientas moleculares para su detección. Salud Uninorte [Internet]. 2014 [citado: 6 julio 2015]; 30 (1): 73-94. Disponible en: <http://rcientificas.uninorte.edu.co/index.php/salud/article/viewFile/5458/4766>