

Fuentes de infección de la Salmonelosis en el *Crocodylus acutus* en cautiverio.

Vet. Arg. ? Vol. XXXII ? N° 328 ? Agosto 2015.

Roberto Rosell Pardo¹ y Armentina Gleibis Ramírez Rubio².

Resumen

En el zoológico de cocodrilos de Manzanillo, se presenta una alta mortalidad causado posiblemente por bacterias del género *Salmonella sp.* por lo que el objetivo de la investigación determinar las fuentes de infección de la salmonelosis en el *Crocodylus acutus* en su primer año de vida en cautiverio. Se investigaron las posibles fuentes de infección y vías de transmisión donde se realizó un estudio microbiológico, bioquímico y serológico en el Laboratorio Provincial de Diagnóstico Veterinario de Granma y el Laboratorio de Higiene y Epidemiología de Manzanillo para confirmar la presencia de *Salmonella sp.* La investigación microbiológica, bioquímica y serológica fueron positivas en las muestras investigadas y existió diferencias significativas para ($p < 0,05$) con un mayor número de cepas del serogrupo E. La principal fuente de infección y su alimentación con él, es la vía de transmisión fundamental en el desarrollo de la enfermedad, y el agua es un medio propicio para su desarrollo, no resultando así en los huevos investigados.

Palabras clave: fuentes de infección, salmonelosis, Crocodylus acutus.

Summary

In the zoo of crocodiles of Manzanillo, a high mortality is presented possibly caused by bacteria of the gender *Salmonella sp.* for that the objective of the investigation to determine the sources of infection of the salmonelosis in the *Crocodylus acutus* in their first year of life in captivity. The possible infection sources and transmission roads were investigated where he/she was carried out a study microbiológico, biochemical and serologic in the Provincial Laboratory of Veterinary Diagnosis of Granma and the Laboratory of Hygiene and Epidemiology of Tree to confirm the presence of *Salmonella sp.* The investigation microbiológica, biochemistry and serologic they were positive in the investigated samples and it existed significant differences for ($p < 0,05$) with a bigger number of stumps of the serogrupo E. The main infection source and their feeding with him, are the road of fundamental transmission in the development of the illness, and the water is a half favorable one for its development, not being this way in the investigated eggs.

Key words: sources of infection, salmonelosis, Crocodylus acutus.

¹ M.Sc. Departamento de Zootecnia. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Granma. Cuba.

² M.Sc. CUM. Campechuela Universidad de Granma. Cuba.

Contacto: rrosellp@udg.co.cu

Introducción

La alta mortalidad en el primer año de vida entre los ejemplares que se encuentran en cautiverio causado posiblemente por bacterias del género *Salmonella sp.*, lo que resulta necesario esclarecer para tomar las medidas que nos permitan revertir esta situación.

La *Salmonella sp.* es un patógeno oportunista que desarrolla la enfermedad cuando hay estados de estrés y puede infectar a diferentes animales domésticos y salvajes, incluso al hombre (Morse y Duncan, 1974; Murray, 1991). Existen diferentes subespecie de *Salmonella* que normalmente se aíslan en las personas, alimentos, peces y reptiles mientras otras subespecie (II, III, IV, VI) aparecen en los animales y el ambiente y raramente de los humanos (Bopp *et al.*, 1999).

La *Salmonella sp.* debe investigarse en los animales en cautiverio, porque su afectación disminuye la población de cocodrilos en el primer año de vida, produce retraso en su crecimiento y considerables pérdidas económicas; además constituye una vía de transmisión de la enfermedad en humanos al efectuarse el contacto con ellos, por lo que es necesario su identificación oportuna y una caracterización epizootiológica para poder realizar un plan de medidas para su posible prevención y control. Por lo tanto el objetivo de este trabajo es determinar la principal fuente de infección de la salmonelosis en el *Crocodylus acutus* en su primer año de vida en cautiverio.

Material y Métodos

La investigación se realizó en el período de julio 2008 a julio de 2009 en el zoológico de cocodrilos, que pertenece a la unidad administrativa las 21 de Manzanillo de la Empresa Nacional para la Protección de la Flora y la Fauna del Ministerio de la Agricultura.

Para el desarrollo de la investigación se investigaron bacteriológicamente las posibles fuentes de infección y vías de transmisión de la Salmonelosis; se tomó muestras de agua en un pomo ámbar estéril de 200 ml de las piscinas donde se encontraban ambos grupos de cocodrilos y en la fuente de abasto; también se investigó la alimentación que se les brindaba a base de pescado industrial congelado en 10 cajas (machuelos) de 30 kg. con aproximadamente 500 de ellos, donde se seleccionaron al azar seis especímenes por caja, y de 901 huevos colectados en los tres corrales de las reproductoras, se investigaron 90 huevos, 30 en cada uno de los tres grupos clasificados en fértiles, infértiles y con mortalidad embrionaria y desinfectados sus cáscaras con alcohol etílico de 90 al 70 %.

A todas las muestras se les realizó una investigación microbiológica con medios de cultivos enriquecidos, selectivos y diferenciales, después las pruebas bioquímicas y serológicas para la identificación de la bacteria en el Laboratorio Provincial de Diagnóstico Veterinario de Granma y en el Laboratorio de Higiene y Epidemiología de Manzanillo; según las normas de diagnóstico veterinario siguientes: las pruebas microbiológicas (NRAG: 1009, 1989); las pruebas bioquímicas (NC: 76-04-8,1982) y las serológicas por antiseros de los

Laboratorios Finlay (NC: 38-02-13,1991).

Para el tamaño de las muestras se utilizaron las fórmulas para un 95 % de confianza Ortega (2002) y se corroboró con el programa Calepi para un error absoluto del 5 % para el pescado y los huevos (Fuente *et al.*, 2002).

$$No = Z^2 * pq / E^2$$

$$Tm = No * N / No + 1$$

Los datos obtenidos se procesaron estadísticamente mediante un análisis de comparación de proporciones en el paquete estadístico Statistica. 6 para Windows xp.

Resultados

Quadro 1. Aislamiento de muestras de agua en el zoológico de cocodrilos.

Indicadores	Número más probable de coliformes por 100 ml (NAAP)	
	Piscinas de Cocodrilo	Fuente de abasto
Coliformes totales	+ 2 400 coli x ml	+ 2 400 coli x ml
Coliformes fecales	- 2 coli x ml	7 coli x ml
Salmonella	Salmonella D	No se aislaron

Quadro 2. Resultados de las pruebas bioquímicas positiva de Salmonella sp.

Productos bioquímicos	Resultados
Glucosa	+
Lactosa	-
Sulfídrico	+
Lisina	+
Citrato	+
Indol	-
Motilidad	+
Urea	-
Fenilalanina	-
Malonato	-

Serológicas.

Quadro 3. Resultados serológicos de *Salmonella* sp. en el pescado.

Muestras investigadas		Kligler Hígado (%)	Kligler Intestino (%)	Kligler Músculo (%)
60		41,67 _a ⁺	40,0 _a ⁺	18,33 _b ⁺
Serogrupos	D	11,7	11,7	11,7
	E	30,0	30,0	30,0

Subíndices distintos difieren significativamente para ($p=0,05$).

Quadro 4. Comparación entre los serogrupos D y E de *Salmonella* en las muestras de pescado.

Serogrupos	Proporciones	Significación
D	0,433	$p < 0.05$
E	0,583	

Quadro 5. Resultados serológicos de *Salmonella* sp. en huevos.

Muestras investigadas	Kligler Huevos fértiles (%)	Kligler Huevos con mortalidad embrionaria (%)
30	6,7 _a ⁺	3,3 _b ⁺
Serogrupos	D	D

Subíndices distintos difieren significativamente para ($p=0,05$).

Discusión

Microbiológica.

Los resultados en la fuente de agua (Quadro 1) demuestra que el agua que se encuentra en la piscina de los cocodrilos está altamente contaminada con colis totales, al igual que el agua de la fuente de abasto del pozo, pero difiere en que el agua de la piscinas se aisló la *Salmonella* D y no existe presencia de colis fecales, y en el agua del pozo hay presencia de colis fecales, pero no se aisló *Salmonella* sp. Consideramos que es debido a que el agua de la piscina fue contaminada con el alimento y los coli fecales presente en la fuente de abasto y no en las piscinas de los cocodrilos se debe a que las muestras se tomaron una semana después que las muestras de agua de las piscinas posteriormente de unos días de lluvia, lo que indica que el pozo tiene filtraciones del medio exterior y se contamina con

heces fecales, después de ocurrir algunas precipitaciones. En cuanto a la fuente de alimentación a base de pescados los resultados son similares a los notificados por otros (Alonso *et al.*, 1992; Arroyo y Arroyo, 1995). Todas las muestras investigadas (Cuadros 1, 2, 3 y 4) se sembraron en el medio de cultivo SS y se observaron colonias redondas, pronunciadas de color negro brillante, porque estas bacterias utilizaron los elementos nutritivos de este medio enriquecido para *Salmonella* ? *Shigella*, principalmente el citrato férrico amónico, en el medio especializado de cultivo Kligler se utilizó la glucosa y el sulfato ferroso, produciendo en el tubo de ensayo tres tonalidades de la parte inferior a la superior (amarillo, negro y rojo); además se observa la formación de sulfihídrico enmarcado por el color negro y en la bioquímica (Cuadro 2) se comprobó el comportamiento metabólico de la bacteria frente a diferentes sustratos y resultó positivo a la glucosa, sulfihídrico, lisina, citrato y presenta motilidad. Estos resultados fueron inferiores a los obtenidos por otros autores (Roggendorf y Muller, 1976; Cooper, 1981; Debyser y Zwart, 1991), que aislaron *Salmonella* sp. en el 34 % de las muestras investigadas como huésped del tracto intestinal y difiere con los obtenidos en el Jacaré de Pantano y Jacaré Americano en cuanto a la presencia de *Salmonella* sp. en la carne, según lo informado por (Oblinger, *et al.*, 1981) y lo notificado por (Madsen, 1996) que aisló las *Salmonellas* en un 30 % en la carne fresca y el 20 % de carne helada del cocodrilo del Nilo C. nilóticos y el serotipo diagnosticado fue la subespecie de *Salmonella* III en un 41 % de estas muestras.

Serológicas.

La serología dio positivo al suero polivalente a *Salmonella* sp. en todas las muestras investigadas que resultaron Kligler positivo; y al aplicar los sueros monovalente **A, B, C1, C2, E, D y F**, dieron positivos a dos serogrupos **D y E**.

Esta investigación demuestra que el pescado (Cuadros 3 y 4) es la principal fuente de infección y su alimentación con él, es la vía de transmisión fundamental en el desarrollo de la enfermedad de los cocodrilos en cautiverio en el primer año de vida, y que entre los serogrupos de *Salmonella* **D** y **E** aislados existen diferencias significativas para ($p < 0,05$) con un mayor número de cepas del serogrupo **E** coincidiendo con lo notificado por Lane (1996) que informa que los cocodrilos sometidos a situaciones de estrés por la falta de alimentos o hacinamiento adquieren la salmonelosis y que la aparición en el pescado y los productos pesqueros han sido asociada con la contaminación fecal, ya sea por del medio acuático natural donde estos organismos pudieran sobrevivir durante meses a temperatura ambiente, o durante el procesamiento industrial; además la *Salmonella* sp. resiste mucho tiempo en condiciones de congelación, lo que fue corroborado en el ostión congelado y otros productos derivados del mar coincidiendo con lo notificado por varios autores (Leyva, 1989; Alonso *et al.*, 1992, Lee, 1993; Ziemer y Steadham, 2003).

Los resultados en los huevos de las reproductoras (Cuadro 5) indican que aunque los porcentajes son bajos del serogrupo de *Salmonella* **D** aislado, no existió diferencia

significativa entre los huevos investigados y éste puede ser una fuente y vía de transmisión a considerar que pudo haberse contaminado por contacto con las heces fecales del tracto urogenital de las madres o en los nidos hechos en el terrario de los estanques de reproductoras donde existe una alta carga microbiana por la falta de higiene y limpieza durante años, y también por vía transovárica; pero debe realizarse una investigación más exhaustiva con un número de mayor de muestras, incluyendo los ovarios de las reproductoras y el semen del reproductor para determinar, si la vía de transmisión vertical es también decisiva para el desarrollo de la enfermedad en cocodrilos. Estos resultados coinciden con lo notificado por (Cooper, 1981) que obtuvo en los últimos cuatro años en un laboratorio de diagnóstico microbiológico al estudiar 689 *C. porosus* y *C. incita* (incluyendo los huevos fecundos e infecundos) donde un 5 % resultaron positivos a la *Salmonella* sp. y el serotipo predominante fue la *Salmonella* welikade en seis nidos, de los cuales en cuatro se encontraron un 3 % de los huevos contaminados con la *Salmonella* Welikade y en los otros dos nidos un 5 %, lo que consideró que la mayoría de la contaminación de la *Salmonellas* en los huevos fue de origen fecal.

Considerando los resultados, se proponen algunos elementos a considerar para un plan de medidas para la prevención y control de la salmonelosis en los cocodrilos que se encuentran en cautiverio

Conclusiones

El pescado es la principal fuente de infección y su alimentación con él, es la vía de transmisión fundamental en el desarrollo de la enfermedad en el primer año de vida en el *Crocodylus acutus* en cautiverio; porque las investigaciones microbiológicas, bioquímicas y serológicas resultaron positivo a *Salmonella* de los serogrupos **D** y **E**, no siendo así en los huevos investigados, lo que resultó seropositivo en un bajo porcentaje a la *Salmonella* del serogrupo **D**.

Bibliografía.

1. Alonso, J.L; Alonso M.A; Usera, M.A; Acheita, A. (1992). The occurrence of *Salmonella* serotypes in marine recreational water of Valencia, Spain. *Microbiol SEM*. 8: 44 ? 48.
2. Arroyo, G y J. A Arroyo (1995). Detection of *Salmonella* serotypes in edible organ meats from markets in Madrid, Spain. *Food Microbiol*.12: 13 ? 20.
3. Austin, C. and M. J. Wilkins. (1998). Reptiles associated salmonellosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 212: 866 ? 867.
4. Bopp, C. A; F. W. Brenner; J. G. Wells and N. A. Strockbine. (1999). *Escherichia*, *Shigella*, and *In Manual of clinical microbiology*, 7th Edition, P.

- R. Murray Ed. American Society for Microbiology, Washington, DC. América. 459 ? 474.
5. Cooper, J. E. (1981). Pathogenic infection by Salmonella rare among reptilians. In Diseases of reptiles, Vols. 1, 2. J. E. Cooper Ed. Academic Press, London, UK. 105 ?191.
6. Debyser, I. W. J. and P. Zwart. (1991). I study epidemic of the Salmonella in reptiles. Review of the most important diseases in crocodylia which possibly interfere with human health. Vlaams Diergeneeskd Tijdschrift. 60: 164 ?169.
7. Fuente de la, R; Ruiz, A. J; Santa Quiteria, D. Cid; Fuente de la, M; Buen día, V. (2002). Calepi.Macromedia Flash Player copyright Copright ©.versión 6.0.23.0.
8. Lane, T. J. (1996). Crocodilians in Mader, D. R. Journal of. Reptile medicine and surgery. W. B. Saunders Co. Philadelphia. Pennsylvania. 336 ? 340.
9. Lee, P. E. and I. M. Mackerras. (1993). Salmonella infections of Australian native animals. Australian Journal of Experimental Biology. 33: 117 ? 126.
10. Leyva, C.V; Vallejo, V.; Valdés, E; Rodríguez, C.; Pérez, B.; Arocha, C. (1989). Estudio microbiológico de ostión congelado. Rev Cubana Aliment Nutr. 3 (1):115 -120.
11. Madsen, M. (1996). Prevalence and serotype distribution of Salmonella in fresh and frozen meat from captive Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*).International Journal of Food Microbiology. 29: 111 ? 118.
12. Morse, E. V. and M. A. Duncan. (1974). Salmonellosis an environmental problem affecting man and animals. Journal of the American Veterinary Medical Association. 165: 288 ? 299.
13. Murray, C. J. (1991). Salmonellae in the environment. Revue Scientifique et Technique the Office Internationale des Epizooties 10: 765 ? 785.
14. Norma Cubana 38 ? 02 ? 13. (1991). Prueba para la detección de Salmonella.
15. Norma Cubana 76 ? 04 ? I. (1982). Selección y obtención de muestra para la investigación bacteriológica y pruebas bioquímicas para la detención de Salmonellas.
16. Norma Ramal Cubana de la Agricultura. (1989). NRAG.1009:89 Siembra bacteriológica, métodos de ensayos.
17. Oblinger, J. L.; Kennedy, J. E.; M.C. Donald; E. D. West, R .L.(1981). Microbiological analysis of alligator (*Alligator mississippiensis*) J. Food Protection, Vol. 44, (2): 298 ? 299.
18. Ortega, C. (2002). Manual Interactivo de Epidemiología. Universidad de Zaragoza, España. Disponible en Internet:
<http://infecepi.unizar.es/pages/ratio/formD/formD1.htm>.

19. Roggendorf, M. and H. E. Muller. (1976). Enterobacteria of reptiles. Zentralblatt fur Bakteriologie und Hygiene, I Abteilung Original A. 236: 22 ? 35.

20. Ziemer, C. and S. Steadham. (2003). Evaluation of the specificity of Salmonella PCR primers using various intestinal bacterial species. Lett Appl Microbiol. 37: 463 ? 469.
