

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

MCC P/A
 CRIOTECA®
 PLAQUIS®
 M-IDENT®
 NEOGRAM

COSMETIKIT®
 CHROMOSALM
 KITPRO-PLUS
 SEILAGUA®
 ENVIROCOUNT

DRY PLATES®
 DESINFECTEST®
 CROMOKIT®
 SALMOQUICK

MUGPLUS
 CCCNT
 MBS
 AIRESANO

MONOGRAFÍA *Salmonella spp.* y *Shigella spp.*

1-El microorganismo y su interrelación con el ser humano

Salmonella spp. es un género de Enterobacterias que incluye 50 cepas según su serogrupo O, somático, y miles de cepas diferentes según sea su serotipo H, flagelar. La especie principal en animales de sangre caliente es *S.enterica* (antes *S.cholearesuis*), con 6 subespecies, que incluyen la *S.enterica ssp.enterica* con serotipos tifoideos como *S.typhi* y no tifoideos como *S.enteritidis*, *S.abony*, *S.typhimurium*... Se trata de bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, con múltiples flagelos peritricos, sin esporas. Producen SH₂ y son Urea -. Habitan en el intestino de los animales de sangre caliente (y otras cepas en los de sangre fría, incluso en la piel de muchos reptiles). Provocan 3 tipos de enfermedades: a) La salmonelosis, gastroenteritis de transmisión alimentaria, con origen en animales y aguas fecales que bañan y contaminan los vegetales; b) las fiebres tifoideas, con bacteriemia, necrosis, hemorragias y hasta choque séptico, que se transmiten de persona a persona y no deben confundirse con el tifus de Rickettsia transmitido por piojos; c) y las fiebres paratifoideas, con gastroenteritis e incluso septicemia.



Shigella spp. es otro género de Enterobacterias, de bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, inmóviles, sin esporas. Sus 4 especies o serogrupos (*Sh.dysenteriae* –grupo A-, *Sh.flexneri* –grupo B-, *Sh.boydii* –grupo C-, y *Sh.sonnei* –grupo D-) causan, todas ellas, la disentería bacteriana, una gastroenteritis transmitida por el agua, los alimentos contaminados y las moscas, que puede ser fatal. Algunas cepas (no sólo las de la especie más letal: *Sh.dysenteriae*) producen la toxina Shiga, muy similar a la verotoxina de *E.coli* O157, lo que agrava en ellas la probabilidad de letalidad en los afectados, llegando a clasificarse estas cepas como de riesgo biológico tipo 3.

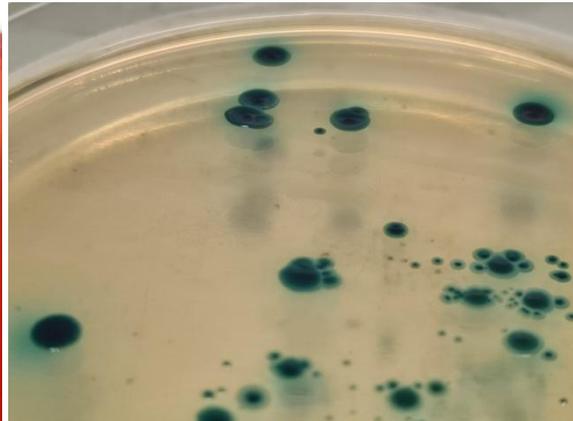


2-Los tipos de productos donde la legislación exige su búsqueda o recuento, así como otros tipos de productos donde a nuestro criterio, sería recomendable analizarlos

-Alimentos, **Salmonella** ausencia en 25 g en: aditivos, cacao, cárnicos y derivados, cereales, comidas preparadas, dietéticos, condimentos y especias, semiconservas, cuajo, frutas, hortalizas, ensaladas, zumos, verduras, galletas, gelatina, colágeno, grasas, harinas, helados, horchatas, jarabes, lácteos, miel, ovoproductos, pastelería, bollería, confitería, repostería, aperitivos, productos de la pesca, moluscos, crustáceos, salsas, semillas germinadas, infusiones, turrone, mazapanes, comida para animales de compañía... y **Shigella**, ausencia en 25 g en: cárnicos (incluido el jamón cocido), productos de la pesca, salsas de mesa, té, turrone, mazapanes, horchata, cuajada, nata, cuajo y miel...



Salmonella enterica en XLD Agar



Shigella flexneri en CCA-MugPlus Agar,
colonias similares a las de *E.coli*

-Medicamentos, ausencia de Salmonella

-Cosméticos no hay mención específica, pero la inocuidad del cosmético derivada del Reglamento UE 1223:2009 implica la ausencia de patógenos

-Superficies de las fábricas, sus almacenes y resto de instalaciones, queda a criterio de cada uno, al revés que *Listeria monocytogenes*, que es obligada para todos los lugares relacionados con alimentos

-Aguas, sólo encontramos legislación en aguas de piscina de Madrid (ausencia en 100 mL) y las de aguas residuales

3-Los métodos oficiales para su detección/recuento

En alimentos, es obligada la ausencia de *Salmonella spp.* en 25g, según la ISO 6579, revitalizando los 25 g en 225 ml de agua peptonada tamponada, enriqueciendo selectivamente en Rappaport y en Tetracionato MK, y aislando en XLD y en otro medio elegido por cada laboratorio de una lista bastante larga en la que se incluye el **Agar Cromosalm** de Microkit (cromogénico con base DCA) con el nombre en la ISO de otro proveedor “ABC”:



Las colonias sospechosas se confirman con varias pruebas bioquímicas (sobre todo TSI, Urea y LIA) e inmunológicas (antisueros polivalentes somáticos O, capsulares Vi y flagelares H).

Resulta curiosa la cantidad de tipos de alimentos donde se busca *Salmonella spp.* y se olvida buscar *Shigella spp.* aunque haya legislación que exige también la ausencia de ésta en 25 g. Y quienes la buscan, la mayoría lo hacen ERRÓNEAMENTE con los mismos medios que *Salmonella spp.*, cuando el Rappaport o los medios cromogénicos de *Salmonella spp.* han sido diseñados para ésta y no para *Shigella spp.*, por lo que dan una enorme cantidad de falsos negativos y en realidad no la están buscando, con el consecuente riesgo para la salud pública. Siendo *Shigella dysenteriae* un patógeno tipificado como riesgo de clase 3, mucho peor que cualquier *Salmonella spp.* alimentaria (que son de riesgo de clase 2), *Shigella spp.* es de obligada búsqueda (según la legislación UE) en los alimentos antes indicados. Años atrás se hablaba del tándem Salmonella-Shigella, pero desde que se puso de moda el medio Rappaport hace 3 décadas, y dado que éste inhibe a *Shigella spp.* (y también a varias cepas de *Salmonella spp.*, lo cual es aún más grave), no ha habido más actualización para el método de *Shigella spp.* que la ISO 21567 de hace 16 años, una gran desconocida, por lo que la mayoría de laboratorios la buscan mal al emplear el método ISO de *Salmonella spp.*, con nefastos resultados a causa de usar Rappaport en vez de Shigella Broth (o SS Broth) y medios de aislamiento en placa que son selectivos para *Salmonella spp.* (no para Salmonella-Shigella), sobre todo los modernos cromogénicos, pero también muchos medios clásicos diferentes al XLD y al SS Agar.

En medicamentos, Pharmacopea exige la búsqueda de *Salmonella spp.* en medicamentos no estériles y se suelen emplear tras el TSB o el Agua de Peptona Tamponada Salina, Tetracionato MKT y Rappaport, y después XLD y BGA ó DCA.

En cosméticos no hay método oficial obligado, pero muchos laboratorios (sobre todo los que fabrican cosmética oral pero también muchos otros que asumen que sus cosméticos pueden acabar rozando por accidente la boca de sus clientes), han seguido una variante de la ISO 6579 de alimentos, con resultados excelentes, tras la inactivación de conservantes en LPT Neutralizing Broth en vez del Agua Peptonada Tamponada y tras el enriquecimiento en SS Broth en vez de en Rappaport, usando para aislar en estrías el XLD y el Cromosalm.

En aguas no se busca obligadamente, ya que se asume que el indicador *E.coli* es suficiente (si no hay *E.coli*, se supone que no hay *Salmonella spp.* ni *Shigella spp.*). Los laboratorios que buscan activamente *Salmonella spp.*, lo suelen hacer con diferentes variantes de las ISO 6579 y 19250. Lo curioso es que la mayoría no miran *Shigella spp.*, cuando es por vía acuática que la cepa mortal (riesgo biológico grupo 3) de *Shigella*, la *Sh.dysenteriae*, se transmite más frecuentemente.

4-Los métodos alternativos que mejoran la rapidez de los resultados y la robustez del análisis

Es abrumadora la cantidad de métodos y kits diferentes que existen para detectar *Salmonella spp.* Como siempre, casi todos se olvidan de *Shigella spp.* Tal y como indica la ISO 17381 sobre los requisitos para la elección de kits (aunque sea una Norma dedicada al análisis de aguas, es extrapolable también a alimentos, cosméticos y otras matrices), un kit debe usarse, según el criterio profesional del usuario, si ahorra tiempo/puntos críticos/manipulaciones y funciona (al menos) tan bien como el método oficial. Esto permite el uso del criterio profesional personal, al revés de la inmoral tendencia cada vez más frecuente de exigir gastos inviables a los diseñadores y fabricantes de métodos alternativos.

Ya desde 1994 existe el medio **SS Broth** que permite el enriquecimiento selectivo del tándem *Salmonella* y *Shigella* sin los problemas del Rappaport:



Desde finales del siglo pasado, comenzaron a desarrollarse medios cromogénicos para *Salmonella spp.* (no para *Shigella spp.*), que permiten ahorrar (al menos en el caso de nuestro Cromosalm "ABC") grandes cantidades de tiempo y dinero en confirmaciones que en medios clásicos son necesarias y aquí ya no, al no confundir los interferentes (*Citrobacter spp.*, colonias negras, *Proteus spp.*, colonias incoloras...) con las colonias diana de *Salmonella spp.*, verdes (página anterior).

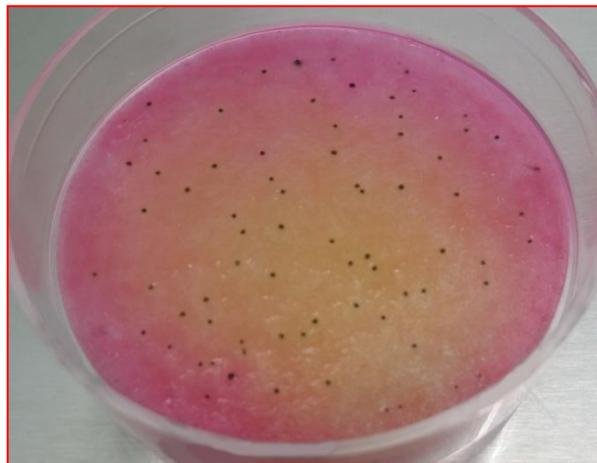
Destacamos la reducción de tiempo en *Salmonella* que supone el protocolo **Salmoquick**, que aúna el preenriquecimiento revitalizador con el post-enriquecimiento

selectivo. No cae en el error de emplear caldo Rappaport, que elimina algunas cepas de *Salmonella spp.* y por supuesto las de *Shigella spp.* Además tiene en cuenta el efecto matriz en muestras con conservantes, el gran y terrible olvido en microbiología alimentaria. Se puede emplear en dos versiones: con medios deshidratados y con medios preparados. Al igual que en el método oficial, si salen colonias sospechosas deben confirmarse. Pero si no aparecen, la industria se ahorra 36h en stock de producto en cuarentena que perdería, de seguir el método oficial. La diferencia entre Salmoquick y la mayoría de métodos alternativos es el precio, que puede llegar a ser tan reducido como 2 €/test completo (confirmaciones no incluidas si crecen colonias sospechosas).

Izda: Salmoquick con medios preparados.
Dcha: Salmoquick con medios deshidratados



Destacan también las dos **DryPlates** (única marca de placas deshidratadas cuyo diseño permite sembrar también en estrías) que se incluyen en Salmoquick preparado y se pueden adquirir también por separado para estriar los caldos enriquecidos: DryPlates-SAL con Cromosalm Agar, y DryPlates-XLD (en la foto, con colonias negras de *Salmonella*):



Confirmación de colonias sospechosas. También existen multitud de métodos de confirmación. Los más usados son diferentes galerías de identificación, cuya base de datos, meramente clínica, provoca bastantes errores en cepas menos comunes. Y antiseros O, Vi y H. También los látex que aúnan éstos con una interpretación mucho más fácil y casi inmediata de los positivos, por aglutinación muy visual de las partículas del látex.



5-Cómo vemos el futuro en la detección de este grupo

Insistimos que existe un mala práctica en productos donde la legislación exige la ausencia de *Shigella spp.*: buscarla con medios diseñados para *Salmonella spp.*; o peor aún: olvidarse de que hay que buscarla. Lo que está creando un grave riesgo para la Salud Pública.