

**CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA Y MICROBIOLÓGICA DE ABSCESOS
HEPÁTICOS DECOMISADOS DE VACAS PROCEDENTES DE LA PLANTA DE
SACRIFICIO FRIGOVITO DE SAN JUAN DE PASTO EN EL MES DE ABRIL
DEL AÑO 2010**

**MARÍA VICTORIA MORALES OVIEDO
JENNIFER MARCELA QUENAN DAVID**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
PASTO – COLOMBIA
2010**

**CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA Y MICROBIOLÓGICA DE ABSCESOS
HEPÁTICOS DECOMISADOS DE VACAS PROCEDENTES DE LA PLANTA DE
SACRIFICIO FRIGOVITO DE SAN JUAN DE PASTO EN EL MES DE ABRIL
DEL AÑO 2010**

**MARÍA VICTORIA MORALES OVIEDO
JENNIFER MARCELA QUENAN DAVID**

**Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Médico Veterinario**

**Presidente:
DARÍO ALEJANDRO CEDEÑO QUEVEDO
DMV (Universidad de Ucrania)
MSc. (Universidad Nacional de Costa Rica)**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
PASTO – COLOMBIA
2010**

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado, son responsabilidad exclusiva de los autores”.

Artículo primero del acuerdo N° 324 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

DARÍO ALEJANDRO CEDEÑO QUEVEDO
Presidente

CARMENZA JANNETH BENAVIDES MELO
Jurado Delegado

KATIA BENAVIDES ROMO
Jurado

San Juan de Pasto, 28 de Julio de 2010

DEDICATORIA

A mi Madre, quien además de ser una persona incomparable y haberme dado los cimientos de lo que será el resto de mi vida, me ha brindado su apoyo incondicional en todas y cada uno de las etapas de mi formación.

A mis hermanas Daniela y Camila con quienes he compartido momentos muy gratos y quienes son la razón de mi esfuerzo por emprender mi vida profesional.

A mi Familia, amigos y docentes por sus consejos y apoyo en este proceso.

María Victoria Morales Oviedo

DEDICATORIA

A Dios, por ser la luz de mi vida, por brindarme esta gran oportunidad y ser mi fiel compañero en este camino.

A mis Padres Giraldo y Amparo por su inmenso amor, esfuerzo y dedicación.

A mis hermanos Nathalia y Santiago, por su compañía y su apoyo incondicional.

A Jaime por confiar en mis capacidades y por su apoyo.

A mis profesores por brindarme sus conocimientos y orientarme durante este proceso.

A mis amigos por su afecto y todos los momentos compartidos.

A mi familia, a mi tía Rocío y a todos los que han creído en mí.

Jennifer Marcela Quenan David

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan agradecimientos:

DARÍO ALEJANDRO CEDEÑO

KATIA BENAVIDES ROMO

JANETH CARMENZA BENAVIDES

ARSENIO HIDALGO

MARIO JAVIER TOBAR TORRES

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN.....	18
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA.....	20
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	21
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 OBJETIVO GENERAL	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
4. MARCO TEÓRICO	23
4.1 CAUSAS DE DECOMISO DE VÍSCERAS ROJAS EN BOVINOS.....	23
4.1.1 Normatividad para decomisos de vísceras rojas.....	24
4.2 ENFOQUE BASADO EN EL RIESGO DE LA HIGIENE DE LA CARNE EN PRESENCIA DE ABSCESOS HEPÁTICOS.....	25
4.3 GENERALIDADES ABSCESOS HEPÁTICOS	27
4.3.1 Etiología.....	28
4.3.2 Patogenia.....	28
4.3.3 Manifestación clínica.....	29
4.3.4 Hallazgos a la necropsia.....	29
4.3.5 Diagnóstico.	30
4.3.6 Tratamiento.....	30
4.3.7 Control	31
4.4 PRINCIPALES MICROORGANISMOS CAUSALES DE ABSCESO HEPÁTICO.....	31
4.4.1 Bacilos gramnegativos anaerobios	31
4.4.1.1 Fusobacterium	31

4.4.2 Corinebacterias.....	32
4.4.2.1 <i>Actinomyces (Corinebacterium) pyogenes</i>	33
4.4.3 Cocos Grampositivos.....	34
4.4.3.1 Estafilococos.....	34
4.4.3.2 Estreptococos.....	35
4.4.4 Enterobacterias.....	36
4.5 TÉCNICAS PARA EL CULTIVO DE MICROORGANISMOS: SIEMBRA Y ESTUDIO DE BACTERIAS.....	38
4.5.1 Técnicas de siembra.....	40
4.5.1.1 Método de siembra por estría en placa.....	40
4.5.1.2 Métodos de vertido en placa y extensión en placa.....	40
4.5.2 Tipos de medios de cultivo.....	40
4.5.2.1 Medios sintéticos o definidos.....	41
4.5.2.2 Medios complejos.....	41
4.5.2.3 Medios selectivos.....	41
4.5.2.4 Medios diferenciales.....	42
4.5.2.5 Medios selectivos-diferenciales.....	42
4.5.2.6 Medios de enriquecimiento.....	43
4.6 IDENTIFICACIÓN DE COCOS GRAM POSITIVOS.....	43
4.6.1 Identificación de <i>Staphylococcus</i>	43
4.6.2 Agar Sal manitol.....	44
4.7 IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS.....	44
4.7.1 Agar Mac Conkey.....	44
4.7.2 Agar EMB.....	44

4.7.3 Pruebas bioquímicas para identificación de enterobacterias	45
4.7.3.1 TSI (Triple Sugar Iron).	45
4.7.3.2 Citrato de Simons	46
4.7.3.3 LIA	47
4.7.3.4 Urea	48
4.7.3.5 SIM (Sulfuro Indol Movilidad).	48
4.7.3.6 MRVP (Rojo de metilo).	48
4.8 CONDICIONES AMBIENTALES IDÓNEAS PARA EL CULTIVO EN EL LABORATORIO	49
4.8.1 Temperatura	49
4.8.2 pH	50
4.8.3 Oxígeno	50
4.9 OBSERVACIÓN DE BACTERIAS	50
4.9.1 Observación macroscópica.....	50
4.9.2 Observación microscópica	51
5. DISEÑO METODOLÓGICO.....	52
5.1 TIPO DE ESTUDIO.....	52
5.2 LOCALIZACIÓN.....	52
5.3 POBLACIÓN OBJETO Y MUESTRA	52
5.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	53
5.4.1 Materiales.	53
5.4.2 Métodos	53
5.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	54
6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	56

6.1 CARACTERIZACIÓN DE ABSCESOS HEPÁTICOS	56
6.1.1 Caracterización del agente etiológico bacteriano.....	56
6.1.2 Localización de los abscesos hepáticos	58
6.1.3 Caracterización de tamaño de los abscesos hepáticos	59
6.1.4 Asociación de variables	60
6.1.5 Caracterización de las variables Microorganismo Vs Tamaño.....	62
6.1.6 Caracterización de las variables Microorganismo Vs Localización	62
6.1.7 Clasificación de tamaño	65
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
7.1 CONCLUSIONES	67
7.2 RECOMENDACIONES	67
BIBLIOGRAFÍA	69
NETGRAFÍA	71
ANEXOS	77

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Distribución de frecuencias para agente etiológico bacteriano de abscesos hepáticos.	56
Cuadro 2. Variabilidad de Tamaño	59
Cuadro 3. Análisis de Varianza para Tamaño vs. Microorganismo y localización de abscesos.....	60
Cuadro 4. Determinación de grupos a partir de medias estadísticamente diferentes (95% de confianza)	65
Cuadro 5. Clasificación de los Tamaños de los abscesos hepáticos.....	65

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Distribución en porcentajes de la localización de los abscesos hepáticos	59
Figura 2. Contraste de múltiples rangos para Tamaño según Localización.....	61
Figura 3. Contraste de múltiples rangos para Tamaño según Microorganismo	61
Figura 4. Distribución de las medias de Tamaño con respecto a Microorganismo	62
Figura 5. Distribución en porcentaje de la localización anatómica de los abscesos hepáticos para <i>Staphylococcus no aureus</i>	62
Figura 6. Distribución en porcentaje de la localización anatómica de los abscesos hepáticos para <i>E.coli</i>	63
Figura 7. Distribución en porcentaje de la localización anatómica de los abscesos hepáticos para no crecimiento.	63
Figura 8. Distribución en porcentaje de la localización anatómica de los abscesos hepáticos para <i>Actinomyces sp.</i>	64
Figura 9. Distribución en porcentaje de la localización anatómica de los abscesos hepáticos para <i>Proteus sp.</i>	64

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Cuadro de Clasificación de Enterobacterias.....	78
Anexo B. Contraste múltiple de rangos para tamaño según Microorganismo	79

GLOSARIO

ABSCESO: acumulación localizada de material purulento (pus), en cualquier parte del organismo, causada por infección bacteriana.

AEROBIO: organismos que necesitan del oxígeno diatómico para vivir o poder desarrollarse

AGAR: es una sustancia gelatinosa derivada de algas marinas. El agar nutritivo es usado como medio de cultivo para el crecimiento de bacterias y hongos

ANAEROBIO: son los que no utilizan oxígeno (O₂) en su metabolismo, más exactamente que el aceptor final de electrones es otra sustancia diferente del oxígeno.

BACTERIA: microorganismos unicelulares que presentan un tamaño de algunos micrómetros de largo (entre 0,5 y 5 µm, por lo general) y diversas formas.

DECOMISO: Condenado: Medida de incautación o aprehensión que se aplica a todo animal durante la inspección ante mortem, la carne y a los productos cárnicos comestibles, durante la inspección post mortem, como resultado de la inspección por parte de la autoridad sanitaria competente y declarado como no apto para el consumo humano o respecto del cual, la autoridad competente ha determinado de algún otro modo que es peligroso para el consumo humano y que debe ser identificado para su adecuado manejo y disposición final.

FAENADO: Procedimiento de separación progresiva del cuerpo de un animal en canal y otras partes comestibles y no comestibles.

FRIGORÍFICO: Instalación industrial donde se procesan y almacenan productos de origen animal.

MICROORGANISMO: Cualquier organismo vivo demasiado pequeño que solo puede visualizarse mediante microscopio, como las bacterias, los virus, los protozoos, las algas unicelulares y numerosas especies de hongos.

VÍSCERA: es un órgano contenido en las principales cavidades del cuerpo humano y de los animales.

RESUMEN

Con el objetivo de identificar las características de los abscesos hepáticos de vacas procedentes del frigorífico de San Juan de Pasto, se realizó el aislamiento del agente etiológico bacteriano, medición y determinación de la localización de los abscesos, así como la asociación entre las variables (tamaño, localización, microorganismo) a partir de un total de 65 hígados decomisados en el mes de abril de 2010.

Los datos se analizaron con la ayuda del paquete estadístico Stat graphics plus 5.0. La estadística descriptiva indicó que el microorganismo de mayor presentación fue el *Staphylococcus no aureus* con un 36.92% del total de las muestras, seguido de *E.coli* con un 32.31% y siendo el de porcentaje mínimo *Klebsiella sp* con un 1.54%. Con respecto a la localización, se determinó que los abscesos hepáticos se localizaron predominantemente a nivel de la cara parietal de los hígados con un 74%, mientras que en la posición anatómica visceral un 26%. Mediante medidas de tendencia central, dispersión y estableciendo intervalos de confianza del 95%, se caracterizó el tamaño de los abscesos donde se estableció que el más pequeño presentó un tamaño de 1 cm, el de mayor tamaño de 20 cm, y la media fue equivalente a 6.01 cm. Para determinar la relación entre las variables, se realizó el análisis de varianza que reveló que es el microorganismo (valor de p 0.00) el factor que tiene un valor estadísticamente significativo sobre tamaño. Aplicando el método LSD de contrastes múltiples rangos para Tamaño según microorganismo, se realizó la clasificación de los tamaños donde encontramos un tamaño Pequeño (2.53 – 3.46 cm) correspondiente a los microorganismos *Klebsiella sp*, y *E. coli*, los de tamaño Mediano (6 – 6.61 cm) para *Proteus sp.* y *Staphylococcus no aureus*, y los de tamaño Grande (8.62 – 9.73 cm) correspondiente a los microorganismos *Actinomyces sp* y No crecimiento.

ABSTRACT

In order to identify the characteristics of liver abscesses of cattle from the refrigerator of San Juan de Pasto, were isolated from bacterial agent, measuring and determining the location of the abscesses, as well as the association between variables (size, localization, organism) from of total of 65 livers seized in April de 2010.

Data were analyzed with the help of statistical software Stat graphics Plus 5.0. The descriptive statistics indicated that the presentation was higher organism *Staphylococcus non aureus* a 36.92% of total samples, followed by *E.coli* with a 32.31%, being the lowest percentage with a *Klebsiella sp* 1.54%. With regard to location, it was determined that liver abscesses were located predominantly at the level of the parietal side of the livers with 74%, while the visceral anatomical position by 26%. By measures of central tendency, dispersion and confidence intervals 95%, characterized the size of the abscess which was established that has a size smaller than 1 cm, the largest size is 20 cm, and the average equivalent to 6.1 cm. To determine the relationship between variables was performed analysis of variance revealed that the microorganism (p-value 0.00) is the factor that has a statistically significant value on size. Applying the method of contrasts LSD multiple ranges for size as microorganism classification was made of the sizes which are small in size (2.53 - 3.46 cm) for microorganisms *Klebsiella sp*, and *E. coli*, the medium-sized (6 - 6.61 cm) for *Proteus sp. Staphylococcus non aureus* and not, and large (8.62 - 9.73 cm) for microorganisms *Actinomyces sp* and not growth

INTRODUCCIÓN

En un principio el hombre y los animales compartían un hábitat en igualdad de condiciones, pero cuando el hombre tuvo un mayor desarrollo de tipo cerebral, "debido al consumo de carne", (según Engels), se fue alejando de los animales y comenzó a utilizarlos para su bienestar en la vida deportiva, en la economía, en la vida cultural y recreativa. Al domesticar los animales el hombre los acercó a su vivienda, se benefició de los productos: carne, leche, hueso y pieles. Pero además comenzó a compartir las enfermedades de los animales, clasificándolas como zoonosis. En la cadena alimentaria, la selección de los nutrientes, por el hombre es fundamental tanto fisicoquímica como bacteriológicamente. La inspección de las materias primas en los procesos de elaboración de alimentos, siempre ha existido.

La inspección sanitaria de los alimentos es una tarea de responsabilidad, puesto que de ella depende la calidad del producto y la salud de los consumidores. La inspección sanitaria se debe realizar en las diferentes etapas en que está involucrado el proceso de formación de productos. Por eso en la transformación de músculo a carne, la actividad del inspector sanitario es fundamental, además de factores genéticos, fisiológicos, sanidad del animal, técnica de matanza e infraestructura del matadero.

Con la ley 9/70, la ley marco de la salud en Colombia y los decretos que la modifican (2278/86, 547/96, 2333/82 modificado por 3075/97), se le da piso legal a la inspección sanitaria.

Es evidente que en el matadero no se mejora el estado de salud de ningún animal; allí se realizan operaciones técnico-sanitarias que permiten transformar el músculo en carne apta para el consumo humano.

En el municipio de San Juan de Pasto se evidencia una clara problemática sanitaria y económica en el sector ganadero que se refleja en el alto número de descartes involuntarios y de decomisos de órganos, especialmente vísceras rojas donde según Cilima y Martínez¹ el hígado es el órgano que se decomisa en mayor cantidad y donde los abscesos presentan un porcentaje importante de las causas del decomiso de dicho órgano con pérdidas económicas que alcanzan \$ 57.310.045 millones de pesos.

Las millonarias pérdidas económicas para los ganaderos, el deterioro físico y productivo de los animales y el importante riesgo sanitario que representa esta

¹ MARTÍNEZ G, Cilima R. Principales causas de Decomiso de Vísceras rojas en el frigorífico del municipio de Pasto en el año 2008 [Tesis Pregrado] Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias; 2009.

patología en un órgano destinado para el consumo humano hace que sea importante la caracterización y análisis bacteriológico de los abscesos hepáticos, para así como Médicos Veterinarios tener una visión más amplia del manejo de esta patología en nuestra región.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

La investigación en Ganadería busca la optimización de recursos para lograr producir el mayor número de productos ganaderos y sus derivados teniendo en cuenta, temas como el cuidado veterinario (el tratamiento de enfermedades y la higiene) y el desarrollo tecnológico. En el último siglo, el sector ganadero ha experimentado un notable avance debido al progreso tecnológico que ha facilitado el trabajo a los ganaderos y la investigación en el ámbito veterinario gracias al estudio y el control de las enfermedades. Todos estos factores han facilitado la consecución de una producción económicamente rentable y de calidad.

En Colombia se destaca la producción bovina como una fuente alimenticia y económica de gran importancia debido a la masiva comercialización de productos y subproductos obtenidos a partir de esta especie animal, por lo que es necesaria la supervisión constante de personal capacitado que garantice el consumo de productos inocuos para la salud humana.

Diversas patologías se encuentran durante el examen ante y postmortem, que es realizado por los mecanismos de inspección, vigilancia y control de plantas de sacrificio, labor realizada por el Médico Veterinario quien es encargado de supervisar que los órganos destinados a consumo, estén libres de anomalías que puedan afectar la salud humana y decomisar los que estén alterados.

Los abscesos son una causa importante de decomiso a nivel hepático y representan un gran problema de salud pública, ya que muchos de los agentes causales son de carácter zoonótico, poniendo en riesgo la salud del consumidor.

En el municipio de San Juan de Pasto el matadero FRIGOVITO, es la entidad encargada de la recepción, sacrificio y distribución de las canales de bovinos y porcinos para su posterior consumo; por lo cual se convierte en la empresa responsable de asegurar la calidad de los productos que emergen de esta. Mediante el presente trabajo evaluar cuáles son las características morfológicas y microbiológicas de los abscesos hepáticos decomisados en la planta de sacrificio frigovito, con el fin de determinar los microorganismos causales y analizar si existe relación de estos con el tamaño y la localización de los abscesos hepáticos. El aislamiento e identificación de los agentes etiológicos que desencadenan las alteraciones causales de decomiso, servirán para establecer cuáles son los manejos terapéuticos ideales.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuáles son los microorganismos causales, el tamaño y la localización de los abscesos hepáticos en vacas procedentes del frigorífico de San Juan de Pasto en abril de 2010?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar las características morfológicas y microbiológicas de los abscesos hepáticos de vacas procedentes del frigorífico de San Juan de Pasto en Abril de 2010.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Aislar e identificar los microorganismos causales de absceso hepático en vacas que ingresan a la planta de sacrificio frigorífico de San Juan de Pasto, en el mes de Abril de 2010.
- ✓ Clasificar por su tamaño los abscesos hepáticos que se presentan en el ganado que ingresa a la planta de sacrificio frigorífico de San Juan de Pasto, en el mes de Abril de 2010.
- ✓ Determinar si la localización de los abscesos a nivel hepático es visceral o parietal.
- ✓ Establecer la relación existente entre variables tamaño, localización y microorganismo.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 CAUSAS DE DECOMISO DE VÍSCERAS ROJAS EN BOVINOS

Según Lima y castillo:

La fibrosis, cirrosis, abscesos, telangiectasia, ícteros y cisticercosis hepáticos representan el 0.16; 0.81; 0.32; 0.32; 0.94 y 0.94% del total de hígados decomisados. Los abscesos, quistes, puntos rojos, ícteros y cisticercosis renales representan el 2.42; 2.07; 0.32; 0.11 y 0.97% del total de riñones decomisados. Los ícteros, pericarditis, abscesos, quistes, puntos rojos y cisticercosis cardíacas representan el 0.94; 1.45; 0.16; 0.32; 0.32 y 0.48% del total de corazones decomisados².

Morales y Luengo consideran que:

En Chile las principales pérdidas económicas en la especie bovina fueron por el decomiso de canales, hígado y riñón. El mayor decomiso correspondió a hígado con un total de 2.184.568 kilos, lo que a un valor de US\$ 2,00 el kilo, representando una pérdida de US\$ 4.369.136. La distomatosis presentó el mayor número de kilos de hígado decomisados, 1.370.894 lo que por sólo este parasitismo significó US\$ 2.741.788, observándose la mayor pérdida en novillos US\$ 1.631.650, y vacas US\$ 629.214. La hidatidosis, fue otro parasitismo de importancia con 736.777 kilos de hígado decomisados y una pérdida de US\$ 1.473.554, siendo la mayor pérdida en novillos y vacas con US\$ 641.336 y US\$ 590.456, respectivamente. Producto de «otras enfermedades» que afectaron al hígado (abscesos, fibrosis, hidatidosis, distomatosis, cirrosis, angiomas) se decomisaron 76.897 kilos lo que implicó US\$ 153.794 de pérdida³.

Según el estudio realizado por Martínez y Cilima⁴, en el 2009, se encontró que durante el periodo de estudio realizado en frígovito se decomisaron un total de 7.795 órganos de los cuales 5.424 fueron hígados, 2.241 pulmones y 130 corazones. La causa de decomiso mas importante en hígado fue la Distomatosis hepática con un 31.09% seguido de abscesos hepáticos con un 14.42%, fibrosis y adherencias 3.16% y telangectasia con un 2.11%. Aquí se concluye también que las mayores pérdidas económicas se generaron por el decomiso de hígado estimando una perdida en pesos de \$208.210.405, la perdida por decomiso de

² LIMA, R. y CASTILLO, R. Principales causas de decomiso de vísceras y su repercusión en los resultados finales de la unidad comercializadora "La Virina", v. 6, No 3, Marzo del 2005.

³ MORALES M, Luengo L. Decomisos y su importancia económica en mataderos de Chile. Tecno vet. N°1, marzo 1996. [en línea]. [fecha de consulta 20 abril de 2009]. Disponible en internet: http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9343%2526ISID%253D444,00.html.

⁴ MARTÍNEZ. Op. cit., p.60.

pulmones se estimó en \$25.693.770 millones de pesos y por corazón en \$1.119.375.

4.1.1 Normatividad para decomisos de vísceras rojas. “Según el decreto 2278 del 1982, los hallazgos en hígado, corazón, pulmón motivo de decomiso son por parte de la entidad encargada de la inspección, vigilancia y control de plantas de beneficio que en el momento es competencia del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos INVIMA⁵.”

Decomiso en caso de afecciones en el hígado

ARTICULO 285 (decreto 2278).

a) Telangiectasis, formación de quistes, cálculos biliares, se permite la aprobación de la canal y las vísceras y se hará el decomiso del hígado.

b) Degeneración del hígado (cirrosis), degeneración parenquimatosa, degeneración adiposa o amiloide, se permite la aprobación de la canal y las vísceras menos el hígado.

c) Infiltración adiposa, se permite la aprobación de la canal y las vísceras y se hará el decomiso del hígado.

d) Hepatitis de naturaleza infecciosa, tóxica, parasitaria o no específica dependiendo del estado general del animal y la etiología, se permite la aprobación de la canal y las vísceras y se hará el decomiso del hígado.

e) Quistes parasitarios, se permite la aprobación de la canal y las vísceras y se hará el decomiso parcial del hígado, en caso de que la afección esté localizada. Para las partes no afectadas se podría otorgar aprobación condicional para tratamiento por calor.

f) Necrosis bacteriana reciente se permite la aprobación condicional de la canal y las vísceras para tratamiento por calor y se hará el decomiso parcial del hígado.

g) Abscesos hepáticos:

Abscesos embólicos asociados con infecciones umbilicales recientes y con abscesos traumáticos del bazo, se hará el decomiso total de la canal y las vísceras.

⁵ COLOMBIA. Ministerio de salud. Decreto número 2278, (2 de agosto de 1982). En uso de las atribuciones que le confiere el ordinal tercero del Artículo 120 de la Constitución Política y la Ley 09 de 1979.

Abscesos encapsulados, se permite la aprobación de la canal y las vísceras y se hará el decomiso parcial de los órganos afectados.

h) Necrosis similar del hígado en los temeros, se hará el DECOMISO TOTAL.

El Artículo 261(decreto 2278) dice que:

Las canales, órganos y vísceras que como resultado de las inspecciones ante y post-mortem hayan sido declarados como no aptos para consumo humano, deberán identificarse con un sello o distintivo aprobado por el Ministerio de la Protección Social y colocado en diferentes zonas de las partes afectadas, el cual indicará dicha condición mediante la leyenda: Decomisado⁶.

4.2 ENFOQUE BASADO EN EL RIESGO DE LA HIGIENE DE LA CARNE EN PRESENCIA DE ABSCESOS HEPÁTICOS

Según la FAO⁷, la higiene de los alimentos se define como “todas las condiciones y medidas necesarias para asegurar la inocuidad e idoneidad de los alimentos en todos los pasos de la cadena productiva del alimento. La higiene de la carne es una ciencia demandante y tiene que tratar con diferentes clases de riesgos. Por muchos años, la inspección de la carne se enfocó hacia formas de contaminación microbiológica causantes de lesiones macroscópicas. Anteriormente tenían especial atención la tuberculosis, ántrax, salmonelosis en cerdos y parásitos como *Cysticercos*. Ahora que estas formas de contaminación están bajo control en la mayoría de los países, mejores monitoreos y vigilancia hacen posible enfrentar otros patógenos microbiológicos cuya importancia radica en que pueden ser detectados sólo con técnicas de laboratorio.

Según Dirksen: “*La musculatura de bovinos de faena que tienen focos necróticos o abscesos en el hígado no rara vez presentan gérmenes, por lo que ante la presencia de estas lesiones siempre debe hacerse un análisis bacteriológico de la carne*”⁸.

La FAO⁹, también menciona que estudios recientes sobre el riesgo zoonótico de estos patógenos, revelan que la dosis infecciosa media para los diferentes

⁶ Ibíd.

⁷ FAO. Buenas Practicas para la Industria de la Carne. Manual FAO Salud y Producción Animal., Roma 2007 [Fecha de consulta: 7 de julio de 2010] Disponible en Internet: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/y5454s/y5454s01.pdf>

⁸ DIRKSEN, G; DIETER, H. y STOBER, M. Medicina interna y Cirugia del Bovino. Volumen 1. 4ª ed Bogotá: Intermedica Editorial. 2003. p. 574.

⁹ FAO. Op. cit., p. 2.

patógenos de origen cárnico puede variar desde algunas células, por ejemplo, *E. coli* O157:H7, hasta muchos millones de células, como en el caso de la *Salmonella spp.* El tipo y prevalencia de estos patógenos cambia radicalmente con el control de las prácticas de producción, procesamiento y manejo de los alimentos en los diferentes países.

Según Prado, *et al.*:

Escherichia coli es considerado un patógeno que ha emergido como agente importante de enfermedad en el ser humano. Si bien se puede presentar como infección asintomática, tiene la capacidad de causar diarrea, colitis hemorrágica, púrpura trombocitopénica trombótica y síndrome hemolítico urémico (SHU). La consecuencia de las infecciones por cepas de *E. coli* que tiene mayor impacto clínico es sin duda el síndrome hemolítico urémico (SHU), patología que afecta principalmente a niños menores de 5 años, tiene una mortalidad que puede llegar hasta el 10% o dejar secuelas como insuficiencia renal crónica e hipertensión arterial que afectan seriamente la calidad de vida. En el cono sur de América es la principal causa de insuficiencia renal aguda en niños¹⁰.

Para Mattar¹¹, la tasa de prevalencia de 4.7 % encontrada en un estudio en Colombia de *E. coli* O157:H7 en pacientes pediátricos, aunque es aparentemente baja esta entre los límites de otros estudios realizados en Argentina, Chile, Canadá, Tailandia, Bélgica

El mismo autor afirma que al existir un reservorio animal importante como son los bovinos, las posibilidades de diseminación del patógeno y su transmisión al hombre están relacionadas con múltiples factores, algunos relacionados con técnicas de faenamiento de animales, manipulación de carne a nivel industrial y doméstico, hábitos culinarios como el comer carne cruda o insuficientemente cocida, consumo de derivados lácteos sin pasteurizar, entre los más importantes. En esta zoonosis el control efectivo debe ser enfocado necesariamente desde un punto de vista multidisciplinario¹².

¹⁰ PRADO, V, *et al.* Prevalencia de *Escherichia coli* en una zona ganadera de Argentina. Rev. méd. Chile v. 128 n. 12 Santiago dic. 2000

¹¹ MATTAR, S. *E. coli* O157: H7 enterohemorrágico; un agente etiológico de diarrea en Colombia subestimado parte II. Revista MVZ Córdoba. Colombia v. 6 n. 002. 2001

¹² PRADO, V, *et al.* Op. cit.,

Según Mota¹³, la intoxicación estafilocócica es otra de las zoonosis de gran importancia en el ámbito mundial. De los brotes de intoxicación que se presentan, en promedio, el 20% se debe al consumo de alimentos especialmente carne y leche contaminadas con enterotoxinas de bacterias del género *Staphylococcus*.

El mismo autor, señala que cuando los alimentos que contienen enterotoxinas estafilocócicas son ingeridos por el hombre, los síntomas se manifiestan bruscamente entre 2 y 6 h después. Los individuos que sufren intoxicación estafilocócica presentan náuseas, vómitos, calambres abdominales, ocasionalmente diarrea, malestar general y dolor de cabeza, pero no fiebre. Esta intoxicación no es considerada como una enfermedad grave; sin embargo, se han presentado muertes, principalmente en ancianos y niños. Su grado de severidad depende de la cantidad de enterotoxina ingerida, el estado inmunológico del individuo y su edad; de tal manera, que no se tiene un dato exacto de la cantidad de enterotoxina que produce la intoxicación, aunque se han estimado que es desde 100 ng hasta 1 mg¹⁴.

4.3 GENERALIDADES ABSCESOS HEPÁTICOS

Giuliodori, *et al* dice que:

Los abscesos hepáticos se producen en todos los tipos de bovinos pero sólo poseen importancia económica en el ganado de engorde a corral. En EE.UU. generan un perjuicio de 36 millones de dólares anuales; las pérdidas se deben, fundamentalmente, a que disminuye el consumo de alimento (hasta un 13 %), la ganancia de peso (hasta un 11 %), la eficiencia alimenticia (hasta un 29 %) y el rendimiento de la res hasta un 5 %); además, en los frigoríficos son la principal causa de decomiso hepático¹⁵.

Para Bacha¹⁶, esta enfermedad posee gran importancia en el ganado de engorde en el que ocurre en forma secundaria a ruminitis. En estos animales se registran pérdidas considerables, en virtud de que en los mataderos se decomisan los

¹³ MOTA, L. Importancia de la detección de enterotoxinas estafilocócicas. Revista Cubana Aliment Nutr. v. 10 n. 2. La Habana. 1996

¹⁴ *Ibíd.*, p, 2

¹⁵ GIULIODORI, M, *et al*. Prevalencia de abscesos hepáticos en animales de Feedlot en Argentina. M.J. Giuliodori, Cátedra de Fisiología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata Argentina, Vol. 20, No 1, 2000.

¹⁶ FERNANDO BACHA, *et al*. Nutrición, Patología Digestiva y Salud Intestinal Rumiantes En Cebo. Aspectos Prácticos 2002 XVIII Curso de Especialización FEDNA, Barcelona, 143-159. Coopiensos – NACOOOP S.A. [en línea] [Fecha de consulta 20 de marzo de 2010]. Disponible en internet: www.produccion-animal.com.ar

hígados. Se ha observado una incidencia del 22% en bovinos alimentados con cebada en el Reino Unido, y alrededor de 5% de los bovinos que viven en Estados Unidos son rechazados por padecer abscesos hepáticos. Según Domingo y Gutiérrez:

Las lesiones necróticas iniciales, si el animal sobrevive, evolucionan a abscesos en semanas, por licuefacción y encapsulamiento. Los abscesos son lesiones delimitadas residuales, de naturaleza crónica. Normalmente, el número de abscesos presentes en un hígado es elevado, pero en algunos casos, puede darse en un número reducido. En estos casos, al tratarse de lesiones focales, delimitadas, producidas por agentes no considerados zoonóticos, el expurgo de la lesión puede ser aceptable, siempre y cuando se realice sin contaminar el resto del órgano¹⁷.

4.3.1 Etiología. Para Nagaraja y Chengappa¹⁸: “dentro de los microorganismos determinados como causantes de abscesos hepático están *Fusobacterium Necrophorum*, *Actinomyces pyogenes*, *E.coli*, estreptococos betahemolíticos, estafilococos, *Bacteroides spp*, enterobacterias y otras”

4.3.2 Patogenia. Dirksen¹⁹, afirma que los microbios causales de abscesos pueden llegar al hígado por vía traumática, hemática o colagénica. Pueden pasar de un foco peritonítico superficial a la profundidad del hígado, o penetran en el mismo con un cuerpo extraño perforante desde la reddecilla. Con mucha mayor frecuencia llegan a través de la vena umbilical (onfaloflebitis), pero especialmente a través de la vena porta. En este último caso la patología suele iniciarse en una retículo ruminitis (complejo ruminitis – hígado – abscedación).

De acuerdo con lo descrito por Sylvia y Checkley²⁰, en casos de ruminitis la pared ruminal es colonizada por las bacterias del rumen, incluyendo ambos tipos de cepas A y B de *F. Necrophorum*.

¹⁷ DOMINGO, M. El criterio de inspección de lesiones granulomatosas focales en el hígado de rumiantes. En: Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria. Barcelona, 31 de julio de 2006. [Fecha de consulta 20 abril de 2009]. Disponible en internet: <http://www.gencat.cat/salut/acsa/Du12/html/es/dir1623/doc13215.html>.

¹⁸ NAGARAJA G. y CHENGAPPA, N. Liver Abscess in Feedlot Cattle: A review. Departaments of Animal Sciences and Diagnostic Medicine and Pathobiology, Kansas State University, Manhattan 1998.

¹⁹ DIRKSEN, G; DIETER, H. y STOBER, M. Op. cit., p. 574.

²⁰ SYLVIA L, Checkley E. Efficacy of vaccination against *Fusobacterium necrophorum* infection for control of liver abscesses and footrot in feedlot cattle in western Canada. Food Safety Division Alberta Agriculture, Food and Rural Development. Canada 2005.

El mismo autor²¹, afirma que la inoculación experimental de cultivos viables de *F. necrophorum* en las venas portales hepáticas de bovinos originó el desarrollo de microabscesos distribuidos difusamente en un tiempo de 30 minutos a 2 horas. Los abscesos macroscópicos son los fagocitos predominantes en lesiones de 8 horas o menos y los macrófagos en las lesiones de 12 horas o más. Se postula que la leucotóxina es la que permite a la bacteria soportar la respuesta celular fagocitaria permitiendo así que la infección persista. Si la invasión hepática es masiva se produce toxemia a partir de la infección bacteriana, lo que causa enfermedad aguda o crónica. Se ha aislado un lipopolisacarido endotóxico de *F. necrophorum*, el cual probablemente contribuya a la toxemia. Sin embargo en la mayor parte de los casos las lesiones son demasiado pequeñas para producir signos clínicos. La diseminación hematogena a partir de lesiones hepáticas incluye rotura en la vena cava caudal que puede provocar lesiones múltiples en muchos órganos y desenlace rápidamente mortal.

4.3.3 Manifestación clínica. Radostits²², afirma que en la mayor parte de los casos de absceso hepático en el ganado de engorde no hay signos clínicos, a menos que el absceso sea muy voluminoso y pueda causar una enfermedad aguda o crónica. En los casos agudos se produce fiebre, anorexia, depresión, descenso de la producción de leche y debilidad.

El dolor abdominal se pone de manifiesto a la percusión en las costillas posteriores sobre el flanco derecho, los animales enfermos muestran arqueado de los lomos y resistencia a desplazarse o a echarse. El volumen del hígado puede estar tan aumentado que fácilmente se palpa este órgano por detrás del arco costal. El dolor abdominal puede ser lo suficientemente intenso para provocar un gruñido con cada respiración.

4.3.4 Hallazgos a la necropsia. Según Dirksen *“Las necrosis recientes por fusobacterias aparecen como múltiples focos del tamaño de un grano de arroz al de una avellana, mas claros que el tejido hepático circundante, de limites poco precisos, rodeados de un alo rojo y violeta; su centro consiste en detritos tisulares friables, grumosos”*²³.

²¹ *Ibíd.*, p. 3.

²² RADOSTITS, O. y BLOOD, D. Medicina Veterinaria. Volumen 1. 7º ed. Bogotá: Mc Graw – Hill . 1992. pp. 799-800

²³ DIRKSEN, G; DIETER, H. y STOBER, M. Op. cit., p. 574.

El mismo autor sostiene que:

Los abscesos maduros varían entre el tamaño de una arveja y la cabeza de un niño, pueden ser solitarios o múltiples (hasta cientos); en este último caso su tamaño suele ser uniforme, lo que habla a favor de una génesis hematogena. Los abscesos solitarios suelen encontrarse en la profundidad del órgano cuya superficie diafragmática y / o visceral se encuentra hundida en el sitio. Todo absceso tiene una capsula blanquecina, mas o menos gruesa de tejido conectivo firme anclado fuertemente en el parénquima hepático, cuya superficie interior es irregular y mate (membrana piógena). El contenido es pus gris pardo o gris amarillento, denso y generalmente inodoro.²⁴

Radostits sustenta que:

En la ruminitis de los bovinos suele estar afectado con más frecuencia el saco ventral anterior. Hay lesiones difusas o locales de ruminitis con engrosamiento de la pared, necrosis superficial y aparición subsiguiente de úlceras. Existen abscesos hepáticos en el extremo cardiaco del esófago. Las lesiones hepáticas pueden profundizar en el parénquima o debajo de la capsula, especialmente en la superficie diafragmática. No es rara la propagación al diafragma o a los tejidos perirenales.²⁵

4.3.5 Diagnóstico. Spicer dice que:

El diagnóstico de se estimula en otro lugar de los abscesos hepáticos no específicos. Pudiendo causar estos, hemoglobinuria bacilar que se caracteriza clínicamente por fiebre, ictericia y hemoglobinuria, y en la necropsia por infartos hepáticos en lugar de abscesos. Los casos agudos en bovinos recuerdan la reticuloperitonitis traumática, y es posible establecer la diferenciación solamente por la localización del dolor y la por la ruminotomía exploratoria, intervención necesaria si se sospecha la presencia de hepatitis traumática.²⁶

4.3.6 Tratamiento. Cupp *et al*, nos sugiere que:

Se obtiene mejorías pasajeras por la administración de una serie de sulfonamidas o tetraciclinas, pero son frecuentes las recaídas, ya que es incompleto el control de la infección localizada. Se ha determinado la susceptibilidad del microorganismo a los antimicrobianos por el método del disco. Sin embargo, para alcanzar la concentración inhibitoria mínima (MIC) en el suero de animales

²⁴ RADOSTITS y BLOOD. Op. cit., p. 800.

²⁵ *Ibid.*, p. 578.

²⁶ SPICER J. Microbiología clínica y enfermedades infecciosas. 2 edición, 2009 España, [en línea] [Fecha de consulta: 10 mayo de 2010] Disponible en internet: www.babcookinstitute.com

afectados se requerirán dosis mucho mas altas que las utilizadas corrientemente, las cuales se están investigando.²⁷

4.3.7 Control. Giuliordori²⁸ infiere que puede disminuirse la alta incidencia de abscesos hepáticos en bovinos estabulados reduciendo la proporción de grano en las raciones y por cambio gradual de pasto a raciones de engorde cuando el animal ingresa en el establo. La incorporación de clorotetraciclina (75mg por día) durante el periodo de engorde puede disminuir el número de abscesos.

4.4 PRINCIPALES MICROORGANISMOS CAUSALES DE ABSCESO HEPÁTICO

4.4.1 Bacilos gramnegativos anaerobios. Según Nicolet²⁹, los bacilos estrictamente anaerobios, gramnegativos y no esporógenos, pertenecen a la familia bacteroidaceae. Esta familia consta de tres géneros:

Fusobacterium, *leptotriquia* y *bacteroides*. Aunque determinadas especies poseen un poder patógeno propio, se trata de gérmenes oportunistas en su mayor parte.

4.4.1.1 Fusobacterium. Galleto señala que:

El *Fusobacterium* es un bacilo gramnegativo muy pleomorfo, lo mismo presenta formas cocoides que filamentosas, en parte puntiagudas o fusiformes (de unas 100 micras de longitud). Carece de capsula y es inmóvil. La presencia de gránulos metacromáticos en el citoplasma (número y localización variables) es característica de esta especie. Estos gránulos pueden representarse mejor con la tinción de Giemsa o con Azul de metileno, que con la de Gram. Las fusobacterias no son muy exigentes en general para crecer en los medios de cultivo. Crecen en condiciones anaerobias estrictas en los medios usuales enriquecidos con sangre o suero; el 5 al 10% de CO₂ favorece su crecimiento. Las colonias son redondas, de 1 a 3 mm de diámetro, grisáceas y provistas a veces de apéndices. En agar sangre se observa en ocasiones hemólisis beta o alfa, pero muchas cepas no son

²⁷ CUPP, EW, DUKE BO, MACKENZIE, et al. The effects of long-term community level treatment with ivermectin (Mectizan) on adult *Onchocerca volvulus*. En: Latin America. Am J Trop Med Hyg 2004 [en línea] [Fecha de consulta 30 de mayo de 2010] Disponible en internet : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=15569792&itool=iconabstr Acceso: 15/11/07.

²⁸ GIULIODORI, M, et al. Op. cit.,

²⁹ NICOLET, J. Compendio de Bacteriología Medica Veterinaria. zaragoza-España: Acribia. 1984. pp. 101-102.

hemolíticas. *F. necrophorum* se diferencia de otras especies del género por producir indol del triptófano y por su actividad relacionada con una lipasa. Las fusobacterias no son sacarolíticas o lo son solo débilmente.³⁰

Lagworth señala también que:

F. necrophorum es un habitante normal, con otras especies del mismo género, del tracto gastrointestinal de bovinos, ovinos, porcino, equinos y otros. Se sabe poco sobre la colonización de la orofaringe de los animales; en cambio, hay datos de referentes a la presencia de *F. necrophorum* en la panza de los rumiantes. Este germen es muy resistente fuera del organismo en condiciones de humedad y puede sobrevivir durante meses en el suelo. La infección es endógena muy a menudo o se produce a causa de la contaminación ambiental. *F. necrophorum* es un germen productor de necrosis, que utiliza como puertas de entrada las heridas externas, las lesiones de las mucosas o los traumatismos con isquemia y destrucción tisular. Se aísla a menudo con ocasión de diversas lesiones gangrenosas y necróticas, así como de abscesos, sobre todo en los bovinos, ovinos y porcinos³¹.

Además el mismo autor sostiene que “*Múltiples abscesos de tamaño diverso (hasta 20 cm de diámetro), en partes confluentes, localizados en el parénquima del hígado son producidas como consecuencia de lesiones de la mucosa del rumen o del intestino (ulceras, cuerpos extraños). La infección se origina probablemente por continuidad o por la circulación porta*”.³²

4.4.2 Corinebacterias. Biberstein. E. infiere que:

Las corinebacterias son bacilos pleomórficos, asporógenos, inmóviles y gram positivos cuya pared celular contiene ácido meso – diaminopimélico (DAP), arabinogalactana y ácidos micólicos. Estos constituyentes son típicos de las bacterias corineformes, las cuales también incluyen a las micobacterias y a las nocardias. Las corinebacterias se presentan en acúmulos de células paralelas (empalizadas) o entrecruzadas (letras del alfabeto chino) que incluyen formas coloides, formas bacilares, formas de masa y formas filamentosas. Esta morfología se denomina difterioide. Cuatro especies de bacterias difteroides son patógenas de relieve para los animales *C. (Actinomyces) pyogenes* está implicado en los procesos supurativos de los rumiantes y del cerdo, *C.*

³⁰ GALLETO M, Martín V. Aspectos bacteriológicos en el desarrollo de patologías del bovino. En: Departamento de Patología Animal UN.R.C. Río Cuarto, Argentina Medicina Veterinaria, Vol.16. 1994 [en línea] [Fecha de consulta: 30 de mayo de 2010] Disponible en: www.microbiologiaveterinaria.uchile.cl/.../0,1421,SCID%253D18273%2526ISID%253D451,00.htm.

³¹ LANGWORTH, B., *Fusobacterium necrophorum*: Its Characteristics and Role as an Animal Pathogen. Bacteriological Reviews American Society for Microbiology. Vol. 41, No. 2.p. 373.

³² *Ibid.*, p. 374.

Pseudotuberculosis provoca abscesos caseosos en los rumiantes y en los equidos, *C. (Rhodococcus) equi* produce una neumonía supurada de los potros jóvenes, *C. renale* coloniza el tracto genital.³³

4.4.2.1 Actinomyces (Corinebacterium) pyogenes. Para Dengdi y, Shichun³⁴ el *Corynebacterium* es un pequeño bacilo gram positivo que carece de capsula y de gránulos metacromáticos. La estabilidad de la reacción gram positiva es equiparable a la de los estreptococos. Su pared celular carece de los constituyentes de las corinebacterias, pero contiene lisina, ramnosa y glucosa, constitución que recuerda la del genero actinomyces. Es un microorganismo anaerobio facultativo que necesita medios enriquecidos y hasta 40 horas para producir colonias visibles en agar sangre. Su crecimiento es óptimo a 37°C, produciendo colonias traslucidas y hemolíticas de un tamaño de incluso 1mm. La especie *A. pyogenes* es catalasa negativa, fermenta la lactosa y digiere las proteínas (gelatina, caseína, suero coagulado). Es sensible a la desecación, al calor (60° C), a los desinfectantes, a los antibióticos B- lactamicos y resistente a las sulfonamidas.

El mismo autor sostiene que este microorganismo provoca procesos supurados habitualmente complicados por otras bacterias comensales potencialmente patógenas, especialmente por bacterias anaerobias asporógenas (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* spp.). Las lesiones son abscesos, empiemas o piogranulomas. Con frecuencia los abscesos están rodeados por una capsula de gran espesor. “*En los bóvidos, A. pyogenes esta implicado en la mayoría de las infecciones purulentas de origen traumático y oportunista, que pueden ser locales, regionales o metastásicas. Las localizaciones habituales son el pulmón, el pericardio, el endocardio, la pleura, el peritoneo, el hígado, las articulaciones, el útero, la corteza renal, el encéfalo, los huesos y los tejidos subcutáneos*”³⁵.

Biberstein³⁶, nos sugiere que para el diagnostico de laboratorio, las extensiones de tejidos o de exudados teñidas por el gram revelan la presencia de bacterias difteroides gram positivas mezcladas con frecuencia con otras bacterias. Las muestras sospechosas se siembran en agar sangre y en medios anaerobios. Son esenciales tanto la incisión como el drenaje de los abscesos. A pesar de que *in*

³³ BIBERSTEIN, E. Tratado de Microbiología Veterinaria. zaragoza-España: Acribia, 1986 p. 185.

³⁴ DENGDI, A., SHICHUN, C. *Actinomyces ruminicola* sp. nov., isolated from cattle rumen. En: International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2006, [en línea] [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://ijs.sgmjournals.org/cgi/reprint/56/9/2043>

³⁵ *Ibid.*, p. 185.

³⁶ BIBERSTEIN. *Op. cit.*, p. 185.

vitro son eficaces muchos antibióticos, incluidas todas las penicilinas, el tratamiento medico por si solo puede ser defraudante como consecuencia de la desigual distribución de los antibióticos en los sitios donde se localizan las lesiones.

4.4.3 Cocos Grampositivos. Castaño³⁷ dice que los cocos grampositivos de importancia medica veterinaria se dividen en dos grupos: uno formado por los aerobios, pertenecientes a las familias micrococcaceae (estafilococos) y streptococcaceae (estreptococos), y otro por los anaerobios de la familia peptococcaceae (peptococcus, peptostreptococcus).

4.4.3.1 Estafilococos. Son cocos grampositivos, inmóviles, catalasa positivos, aerobios o anaerobios facultativos (0.5 – 0.8mc), que por lo general aparecen agrupados irregularmente en racimos. Los estafilococos no imponen grandes exigencias culturales, pues crecen en los medios habituales.³⁸

Devriese señala que:

El género *Staphylococcus* se divide en varias especies según una clasificación basada en la estructura de la pared celular (composición de péptidoglucano, acido teicoico, presencia de proteína A) y en las propiedades bioquímicas y fisiológicas. Los estafilococos coagulasa positivos son especies patógenas. Dentro de los coagulasa negativos adquieren una importancia medica creciente, sobretodo *S. epidermidis*, y asimismo, aunque en menor medida, *S. saprophyticus* y otros *S. hominis*, *S. haemolyticus* y *S. simulans*³⁹.

Además el mismo autor dice que:

Los estafilococos patógenos producen multitud de enzimas y toxinas, cuyo papel respecto a la virulencia no esta determinado siempre con seguridad. La gama de los diversos factores puede variar de una cepa a otra, por lo cual difiere también la virulencia entre ellas. Los factores mejor definidos son los de *S. aureus*, el cual puede tener también capsula en ciertas circunstancias (colonias mucosas). Los factores de virulencia más importantes son: Factores que interfieren en la

³⁷ CASTAÑO, A., *Streptococcus agalactiae*: hasta ahora el único *Streptococcus* patógeno de tilapias cultivada s en Colombia. En: Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria de Zootecnia RFMVZ Vol. 54, No 2 2007.

³⁸ *Ibíd.*, p. 115.

³⁹ DEVRIESE. A., DEKEYSER H. Prevalence of different species of coagulase-negative staphylococci on teats and in milk samples from dairy cows. J. Dairy Res 1980. [en línea] [Fecha de consulta: 1 de marzo de 2010] Disponible en internet: <http://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/issues/vet-05-29-2/vet-29-2-39-0310-21.pdf>

fagocitosis (la capsula, la proteína A, la coagulasa), hemolisinas (alfa, beta, gama y delta), enzimas (la estafilocinasa, la hialuronidasa, la catalasa) y exotoxinas (enterotoxinas, exotoxina tipo C)⁴⁰.

Según Watts y Yancey:

Los estafilococos patógenos son los más frecuentes de los gérmenes productores de enfermedades en los animales. Participa fundamentalmente en los procesos purulentos (abscesos, flemones, pústulas, foliculitis, inflamaciones de las mucosas. Para su diagnóstico, los estafilococos pueden verse sin dificultad en preparaciones directas obtenidas de material clínico. El cultivo de estos cocos gram positivos se realiza preferentemente en agar sangre de oveja. La hemólisis tiene valor diagnóstico por regla general. En los casos de duda, el diagnóstico definitivo tiene que basarse en la determinación de la coagulasa o del “clumping factor” (prueba rápida con plasma de conejo en portaobjeto) o bien en la producción de nucleasa (Dnasa, termonucleasa). También existen sistemas comerciales de identificación para estos patógenos, el sistema Staph-ident (bioMerieux-Vitek, Hazelwood) que consiste de 10 microtubos que contienen substratos convencionales o cromogénicos. Este sistema tiene la habilidad para separar *S. intermedius* de *S. aureus* en base a la producción de 3 galactosidasa⁴¹

4.4.3.2 Estreptococos. Zuazo⁴² nos informa que los estreptococos son gérmenes gram positivos entre esféricos y ovoides, catalasa negativos, inmóviles, que miden menos de 2µm y se presentan en parejas o en cadenas. El hecho de no producir catalasa es un carácter importante para diferenciar estos gérmenes de los estafilococos catalasa positivos. El metabolismo de los estreptococos es fermentativo. Se trata de bacterias anaerobias facultativas, pues las condiciones microaerófilas (5 a 10% de CO₂) favorecen su crecimiento.

Farrow y Kruze⁴³ dicen que Los estreptococos son muy exigentes desde el punto de vista de su cultivo; la mayoría de las especies crecen solo en medios ricos. El

⁴⁰ *Ibid.*, pp. 115-116.

⁴¹ WATTS J., YANCEY R., Identification of Veterinary Pathogens by Use of Commercial Identification Systems and New Trends in Antimicrobial Susceptibility Testing of Veterinary Pathogens. Vol. 7 No 3. 1994. [en línea]{Fecha de consulta: 10 de marzo de 2010} Disponible en internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC358330/>

⁴² ZUAZO, J. Microbiología y Parasitología Médicas. En: Llop, A., Valdés – Dapena M., Zuazo., J. Ed. Ciencia Médicas. Ciudad de La Habana. 2001. [en línea] [Fecha de consulta: 1 de mayo] Disponible en internet: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020209.html>

⁴³ FARROW, J., KRUIZE, B., PHILLIPS, A. Taxonomic studies on *Streptococcus bovis* and *Staphylococcus equinus*: description of *Staphylococcus alactolyticus* sp. nov. and *Staphylococcus saccharolyticus* sp. nov. Syst. Appl. Microbiol. 1984 [en línea] [Fecha de consulta: 1 de mayo de 2010] Disponible en internet: jsb.sgmjournals.org/cgi/reprint/52/4/1247.pdf

mas adecuado para su asilamiento es el agar sangre de oveja que permite determinar la actividad hemolítica. Como los estreptococos poseen una resistencia natural a los antibióticos aminoglucosidos, se emplean medios selectivos adicionados de neomicina o gentamicina. Los estreptococos se caracterizan por sus propiedades hemolíticas, antigénicas, y fisiológicas:

- ✓ Hemólisis (alfa y beta),
- ✓ Caracteres antigénicos (la clasificación de estos gérmenes se realiza por diferenciación serológica basada en los carbohidratos específicos de la pared celular (sustancia C),
- ✓ Caracteres fisiológicos y métodos especiales de identificación (fenómeno CAMP).

Además los mismos autores comentan que los factores de virulencia de los estreptococos patógenos son muy variados y difieren de unas especies a otras. Entre ellos encontramos: la capsula, las estructuras de adhesión, las proteínas de la pared celular, hemolisinas, hialuronidasa, fibrinolisin, neuraminidasa, desoxirribonucleasa y las toxinas eritrogenicas. Los estreptococos son en general bastante sensibles a los antibióticos beta lactamicos y macrólidos, asimismo al cloranfenicol y tetraciclinas. Tienen una resistencia natural a los aminoglucosidos. El antibiótico de elección es la penicilina. Como alternativos, hay que considerar los macrólidos (espiramicina, eritromicina, tilosina).⁴⁴

4.4.4 Enterobacterias. Para Carter y Chengappa⁴⁵ “Las enterobacteriaceas son bacilos gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos de tamaño mediano. Son negativos a oxidasa, positivos a catalasa (hay algunas excepciones, no esporuladores, fermentativos (a menudo con producción de gas) y en general móviles”.

Vadillo y Mateos sustentan que:

Los miembros de esta familia se hallan ampliamente distribuidos en el agua, la tierra, las plantas y muy especialmente en el tracto intestinal del hombre y de los animales formando parte de la micropoblación bacteriana normal del intestino grueso. Algunas bacterias ocupan un nicho ecológico muy limitado, mientras que otras son ubicuas. *Salmonella* entérica serotipo typhi causante de la fiebre tifoidea, se encuentra solamente en los seres humanos. Por el contrario, las

⁴⁴ Ibid., p. 135.

⁴⁵ CARTER, G., CHENGAPPA, M., Bacteriología y Micología Veterinarias. Bogotá: Manual Moderno, 1994. p. 267.

cepas de *Klebsiella pneumoniae* pueden colonizar el tracto intestinal del hombre y de los animales y causar numeroso tipos de infecciones extraintestinales⁴⁶.

Los mismos autores sustentan que entre los cientos de especies reconocidas, y posiblemente entre los miles de especies exigentes, dentro de la familia enterobacteriaceae, tan solo unas 28 especies tienen significación clínica. No obstante, producen muchos tipos e importantes infecciones en los seres humanos y en muchas especies animales. Se calcula que las enterobacterias representan el 80% de los aislamientos de bacilos gramnegativos y el 50% del total de los aislamientos bacterianos de los laboratorios de microbiología clínica. Suponen casi el 50% de los casos de septicemia y más del 70% de las infecciones del tracto urinario. También se pueden aislar a partir de abscesos, heridas, mastitis, neumonías, aerosaculitis, meningitis artritis, poliserositis y peritonitis.⁴⁷

Koneman dice que:

Las enterobacterias pueden utilizar numerosos sustratos como fuentes energéticas de átomos orgánicos (C, N, O, H), y por ello son capaces de crecer en medios no enriquecidos que contengan un extracto de carne o peptona sin necesidad de añadir cloruro sódico ni otros suplementos. Las muestras clínicas procedentes de lugares del cuerpo normalmente estériles (sangre, líquido cefalorraquídeo, etc.) se cultivan en medios enriquecidos: agar sangre o agar chocolate. Las muestras de orina, el tracto respiratorio (esputos y frotis faríngeos) y de heridas pueden contener varios microorganismos de diferentes especies y por ello se cultivan también selectivos/diferenciales. El más utilizado es el agar MacConkey. Este medio de cultivo permite el crecimiento de todas las enterobacterias⁴⁸.

El mismo autor infiere que la identificación de lo que se refiere al género y la especie se suele realizar con pruebas bioquímicas tras un examen preliminar de su morfología (bacilos gramnegativos).

Algunas de las pruebas que se emplean con mayor frecuencia son las que determinan el tipo de fermentación del ácido fórmico (rojo de metilo y Voges Proskauer), la fermentación de la lactosa, la utilización del citrato como única fuente de carbono, la producción de indol a partir del triptófano, la hidrólisis de la

⁴⁶ VADILLO S., PIRIZ S., MATEOS E. Manual de Microbiología Veterinaria. México: Mc Graw Hill. 2002. p 301.

⁴⁷ *Ibid.*, p. 302.

⁴⁸ KONEMAN W. The Enterobacteriaceae in Diagnostic Microbiology. 5ª. Edición, Washington Square: Lippincott – Raven Publishers, 1997 [en línea] [Fecha de consulta 29 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.medicina.unal.edu.co/Departamento/Microbiología/Docs>

urea y la producción de sulfuro de hidrogeno, y las pruebas de la lisina y la ornitina descarboxilasa⁴⁹.

4.5 TÉCNICAS PARA EL CULTIVO DE MICROORGANISMOS: SIEMBRA Y ESTUDIO DE BACTERIAS

Romero⁵⁰, argumenta que para efectuar el estudio de los microorganismos, se han diseñado diversos métodos en los que es posible cultivarlos bajo condiciones experimentales y manejar un solo tipo de microorganismo. Una de las técnicas más usadas en el laboratorio de microbiología consiste en transferir una muestra microbiológica de un ambiente determinado a un medio de cultivo, lo que permite obtener cultivos microbianos. Cultivar un microorganismo significa promover intencionalmente el desarrollo de éste en medios de cultivo y condiciones de laboratorio controladas. La población de microorganismos desarrollada en un medio se denomina cultivo. Cuando éste contiene una sola especie de microorganismo, se denomina cultivo puro o axénico, cuando contiene más de una especie de microorganismos se denomina cultivo mixto.

El mismo autor sostiene que:

Los dispositivos empleados en la transferencia de muestras microbianas: hisopo, pipeta (para uso microbiológico son terminales y la parte superior o boquilla debe estar protegida con filtro de algodón), pipeta Pasteur, cable de Kolle o portasa con alambre de platino dispuesto en forma de: aguja, asa, espátula y/o gancho. En la transferencia de microorganismos se emplean agujas, asas de inoculación, hisopos, pipetas o pipetas Pasteur que deberán esterilizarse previamente.⁵¹

Para Bolows y Howsler⁵², la utilización de estos dispositivos, así como de los diferentes medios de cultivo tiene aplicaciones específicas. Por ejemplo, los medios líquidos se preparan en tubos o matraces que se cubren con tapones de algodón o tapones especiales.

⁴⁹ Ibid., p. 175.

⁵⁰ ROMERO, C. Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. Editorial Panamericana, 2º edición. México 2001.[en línea] [Fecha de consulta: 30 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.scribd.com/doc/395622/Manual-de-laboratorio>

⁵¹ Ibid., p. 258

⁵² BOLOWS, A. Manual of clinical microbiology. En: American society for microbiology [en línea] [Fecha de consulta marzo 20 de 2010] Disponible en: http://www.missouri.edu/mmwww/slides.htm_usa, pp. 67 - 73

Un cultivo líquido puede ser transferido mediante un asa microbiológica, un hisopo, pipeta o pipeta Pasteur; el inóculo se deposita dentro del caldo o medio líquido. En este tipo de cultivos los microorganismos presentan un desarrollo particular que se manifiesta en la superficie o a través de todo el líquido. Una de las ventajas que presenta este tipo de cultivo se refiere a la posibilidad de agitarlos acelerando la velocidad de microorganismos anaerobios, por otra parte, en este tipo de cultivos, las poblaciones se encuentran suspendidas y es fácil homogenizarlas, lo que permite estandarizar la concentración del inóculo. La desventaja que presentan, es que en ellos es difícil detectar contaminación a simple vista.

Además, los mismos autores afirman que los medios semisólidos se preparan en tubos, se inoculan con aguja de siembra (asa recta) o pipeta Pasteur; en este último caso es necesario calentar el medio y cuando se encuentra en estado líquido y a una temperatura de aproximadamente 42°C se agrega el inóculo, se homogeniza y se deja solidificar. Estos medios se emplean para estudiar la movilidad de los microorganismos y para favorecer la separación de microorganismos con diferentes requerimientos de oxígeno⁵³.

Los medios sólidos para Cowans⁵⁴, se preparan en tubos o matraces dependiendo de la cantidad o de las necesidades, después de esterilizarlos, estos se inclinan o vierten en cajas de petri. La siembra se realiza con el asa, inoculando la superficie del agar con mucha suavidad; en estos medios, los microorganismos al multiplicarse forman agregados que se hacen visibles a simple vista; a estos agregados se les denominan colonias, las que presentan características que varían con el tipo de microorganismo cultivado y el medio de cultivo empleado.

Romero⁵⁵, infiere que en el estudio de cultivos bacterianos algunos de los criterios que se emplean para caracterizarlas incluyen: tamaño, morfología celular, forma de agrupación, reacción a la tinción de Gram, formación de esporas, movilidad, presencia de inclusiones de reserva y características culturales en medios líquidos y sólidos en los que presentan patrones de desarrollo en cuanto a la forma, tamaño, elevación y color de las colonias.

⁵³ *Ibid.*, p. 75.

⁵⁴ COWAN, S. Manual for the identification of medical bacterial. En. England Cambridge university. 3ª edición. 2000 [en línea] [Fecha de consulta 1 de junio de 2010] Disponible en internet: <http://www.microbiologydetection%5eof/pdf>.

⁵⁵ ROMERO, C. Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. Editorial Panamericana, 2ª edición. México 2001. [en línea] [Fecha de consulta: 30 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.scribd.com/doc/395622/Manual-de-laboratorio>

4.5.1 Técnicas de siembra.

4.5.1.1 Método de siembra por estría en placa. Mac Faddin dice que:

Es el método más fácil y el más usado para obtener cultivos asténicos. Para ello, con un asa de siembra se toma una muestra de la población mixta y a continuación se hacen estrías sobre la superficie de un medio sólido preparado en una placa Petri (a las placas Petri también se les denomina simplemente placas). A continuación, las placas se incuban en un lugar adecuado, permitiendo que las células aisladas experimenten un número suficiente de divisiones para formar colonias visibles⁵⁶.

4.5.1.2 Métodos de vertido en placa y extensión en placa. El mismo autor argumenta que en estos métodos, las suspensiones de células microbianas se diluyen antes de su siembra en placa. Se siguen estas técnicas cuando la muestra contiene tantos microorganismos, que la dilución no se puede realizar en una sola etapa. Por tanto, se realizan diluciones seriadas (en varias etapas), normalmente de diez en diez, pero a veces de cien en cien. Para realizar diluciones de diez en diez, se añade 1 ml de la suspensión bacteriana a 9 ml (el medio estéril o solución salina, igualmente estéril). Se agita vigorosamente para diluir las células y el proceso se repite cuantas veces sea necesario⁵⁷.

4.5.2 Tipos de medios de cultivo. Según Adney:

El tipo de medio que utiliza un microbiólogo depende del microorganismo que está cultivando y el porqué de dicho cultivo. Los microorganismos presentan una enorme variedad de requerimientos nutricionales. Se utiliza un medio mínimo para determinar los requerimientos nutricionales de un organismo y un medio rico si se desea obtener masa celular de una forma rápida. Los medios se pueden formular para el desarrollo de una especie o para distinguir entre especies o cepas. Por tanto, los medios se clasifican en definidos, complejos o indefinidos, selectivos, diferenciales, selectivos-diferenciales y de enriquecimiento, dependiendo de su composición y uso⁵⁸.

⁵⁶ MAC, F. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica .editorial panamericana. Argentina 2003. [en línea] [Fecha de consulta: 1 de junio de 2010] Disponible en internet: <http://www.scribd.com/.../5-Tecnicas-Basicas-Para-El-Cultivo-de-Microorganismos>

⁵⁷ *Ibíd.*, p. 307.

⁵⁸ ADNEY, W., JONES, R. Evaluation of the Rapid system for identification of anaerobic bacteria of veterinary origin. J. Clin. Microbiol. 1985 [en línea] [Fecha de consulta 10 de mayo de 2010] Disponible en internet: http://www.emscience.com/literatura/951953/_microbiology

4.5.2.1 Medios sintéticos o definidos. El mismo autor argumenta que:

Se denomina así, a los medios de los que se conoce la composición química y las cantidades de todos sus constituyentes. Los medios definidos se usan generalmente para realizar estudios genéticos, pero sus inconvenientes a menudo sobrepasan sus ventajas. Así, se requiere un tiempo considerable para preparar un medio definido y las bacterias crecen más despacio en ellos.⁵⁹

4.5.2.2 Medios complejos. Según Davis:

Se desconoce la composición química exacta de un medio complejo. Estos medios se preparan a partir de extractos de productos naturales tales como carne, sangre, caseína (la proteína de la leche), levaduras o soja. Un medio líquido complejo se denomina caldo. La caseína u otras proteínas que se añaden a los medios son usualmente hidrolizadas con enzimas o en medio ácido, para hacerlas más solubles y, por tanto, más fáciles de utilizar nutricionalmente. Una hidrólisis parcial rompe las proteínas en péptidos. Una hidrólisis total las degrada hasta aminoácidos. A las proteínas parcialmente hidrolizadas se les denomina peptonas. Entre las peptonas comerciales se encuentra la proteasa-peptona, la triptona y la triptosa. A la caseína totalmente hidrolizada se le denomina hidrolizado de caseína. Los diversos componentes de un medio complejo se venden como polvos deshidratados. También existen ya cientos de mezclas complejas que se comercializan como medios complejos específicos. Uno de estos medios es el caldo nutritivo, probablemente el medio complejo que más se utiliza. Cuando este medio se solidifica con agar, se denomina agar nutritivo. Generalmente se prefiere la utilización de los medios complejos, ya que son fáciles de preparar y permiten un crecimiento rápido de los microorganismos⁶⁰.

4.5.2.3 Medios selectivos. Para Murray:

Es el medio que permite seleccionar ciertos microorganismos frenando el desarrollo de otros. Esto se logra con el agregado de sustancias inhibitoras como antibióticos, ciertos colorantes, azida de sodio, sales biliares, etc. Ejemplo: medio hipersalado de Champman para *Staphilococcus* (contiene una levadura concentrada de cloruro de sodio soportada casi exclusivamente por estas bacterias); el agar sangre con polimixina B y neomicina usado para aislar estreptococos hemolíticos del grupo A contiene antibióticos que inhiben el desarrollo de los bacilos gramnegativos. También la temperatura de incubación

⁵⁹ Ibid., pp. 70 -71

⁶⁰ DAVIS, H. Evaluation of Quantum II microbiology system for identification of gram-negative bacteria of veterinary origin. En: Clinical microbiology Reviews. Vol. 7, No. 308931994

hace selectivo a un medio de cultivo, por ejemplo, la incubación a 42°C del agar centrimide selecciona *Pseudomonas aeruginosa*⁶¹.

4.5.2.4 Medios diferenciales. Koneman dice que:

Es el medio que permite diferenciar bioquímicamente a las bacterias por su actividad metabólica. Posee un sustrato, sobre el que actúa o no la bacteria, y esa actividad se revela por variación del pH del medio o por alguna actividad enzimática que modifica el aspecto del medio de cultivo. Cuando los sustratos son azúcares o aminoácidos, el medio posee un indicador de pH. De acuerdo con la actividad metabólica de la bacteria sobre ese sustrato, vira o no el pH del medio y este cambia de color o la colonia tiene una coloración particular que permite diferenciarla. Ejemplo: agar EMB que permite ver la actividad bacteriana sobre la lactosa. Otros ejemplos son el agar sangre que evalúa hemolisinas o el agar DNA que determina la producción de DNAsa, etc⁶².

4.5.2.5 Medios selectivos-diferenciales. Stanchi infiere que:

Algunos medios son selectivos y diferenciales al mismo tiempo. El agar MacConkey es un ejemplo de medio selectivo-diferencial, utilizado para detectar cepas de *Salmonella* y *Shigella*, bacterias entéricas (del intestino) que causan disenterías. El agente selectivo del MacConkey actúa como una especie de tamiz grosero que disminuye el campo de identificación. El cristal violeta y las sales del medio inhiben el crecimiento de la mayoría de las bacterias Gram positivas (*Salmonella* y *Shigella* son Gram negativas). A partir de aquí, el componente diferencial del medio, en este caso la lactosa, comienza a ser importante. *Salmonella* y *Shigella* no fermentan la lactosa, pero la mayor parte de las enterobacterias sí lo hacen. Por tanto, las colonias de estas dos bacterias serán rojas, mientras que las restantes no lo serán⁶³.

⁶¹ MURRAY, P. y BARON, E. Specimen Collection, Transport, and Storage. En: Manual of Clinical Microbiology 7th ed. American Society for Microbiology, Washington DC 1999 [en línea] [Fecha de consulta: 4 de junio de 2010] Disponible en internet: www.bvsops.org.uy/pdf/laboratorio.pdf

⁶² KONEMAN, W; ALLEN, S. y JANDA, M. The Role of the Microbiology Laboratory in the Diagnosis of Infectious Diseases: Guideline to Practice and Management. En: Diagnostic Microbiology. 5ª edición. Philadelphia. 1997 [en línea] [Fecha de consulta 20 de mayo de 2010] Disponible en internet: www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp4.pdf

⁶³ STANCHI, N. y MARTINO, E. Microbiología Veterinaria. En: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología, 2007 [en línea] [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp4.pdf

4.5.2.6 Medios de enriquecimiento. Altamiras Villegas dice que:

Un medio de enriquecimiento se utiliza para aislar un tipo particular de microorganismo a partir de una población mixta de gran tamaño. Por ejemplo, las bacterias formadoras de endosporas pueden aislarse hirviendo una muestra de suelo y cultivando los supervivientes. Solamente las endosporas resistirán el tratamiento y podrán crecer. Las bacterias fijadoras de nitrógeno pueden seleccionarse cultivando el inóculo de suelo en un medio libre de nitrógeno, donde sólo ellas podrán crecer porque obtienen el nitrógeno de la atmósfera⁶⁴.

4.6 IDENTIFICACIÓN DE COCOS GRAM POSITIVOS

4.6.1 Identificación de *Staphylococcus*. Según Clavell⁶⁵, se siembra la muestra con asa de argolla en agar sangre. Se incuba a 37°C por 24 horas. Si se obtiene colonias pequeñas y blanquecinas se determina el tipo de hemolisis. Los estafilococos y estreptococos producen hemolisis beta que es la lisis completa de los eritrocitos del agar sangre observándose áreas translúcidas alrededor de las colonias. De estas colonias puntiformes, se realiza una tinción de gram. Los cocos deber ser gram positivos (morados) en forma de racimo si son *Staphylococcus* o cocos en línea si son *Streptococcus*.

Bopp⁶⁶, argumenta que con la tinción de gram podemos identificar si son estafilococos o estreptococos pero se deben hacer otras pruebas para identificar la especie. Para identificar los estafilococos de los estreptococos se realiza la prueba de la catalasa. Para esta prueba se toma un poco de la colonia con una asa y se coloca sobre un portaobjeto. Se agrega sobre este extendido una gota de agua oxigenada al 30%. Esta prueba es positiva si de inmediato se forma burbujas. Se emplea para diferenciar el genero *Staphylococcus* (catalasa positivo) del genero *Streptococcus* (catalasa negativo). Si la prueba de la catalasa es positiva debemos identificar cual estafilococo esta presente. Si es negativa se debe hacer pruebas de identificación para estreptococos.

⁶⁴ ALTAMIRAS, J. y WELSH, L. Cultivo y Aislamiento de Bacterias. En: Microbiología General, Tema 2.- Cultivo de microorganismos. 2001 [en línea] [Fecha de consulta 20 de marzo de 2010]. Disponible en internet: <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%202.%20Cultivo%20de%20microorganismos.pdf>

⁶⁵ CLAVELL, L., PEDRIQUE, M. Microbiología manual de métodos generales. En: selección de pruebas bioquímicas para la identificación de microorganismos. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela, Caracas [en línea] [Fecha de consulta: 2 de junio de 2010]. Disponible en internet: <http://bilbo.edu.uy/~microbio/citrato.html>

⁶⁶ BOPP, C. BRENNER, P. *Escherichia, Shigella, and Salmonella*. En: Murray, P. R., E. J. Baron, Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenen. Manual of society for microbiology. Washington [en línea] Disponible en internet: <http://bilbo.edu.uy/~microbio/RMVP.html>

4.6.2 Agar Sal manitol. Para Mims⁶⁷, se siembra la colonia a identificar en agar manitol sal. Este medio es selectivo y diferencial para el aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus*. El NaCl 7.5% le proporciona lo selectivo ya que solo estos microorganismos osmotolerantes u osmóticos pueden multiplicarse en él. Manitol es el único azúcar fermentado por las cepas patógenas de *Staphylococcus aureus*. La producción de ácidos provenientes de la fermentación del manitol es detectada por el viraje del indicador de pH presente en el medio (rojo fenol) a amarillo. Para confirmar la presencia de *S. aureus* se realiza la prueba de la coagulasa. Para la prueba de la coagulasa se toma 0.5ml de plasma humano o de conejo en un tubo de ensayo y se inocula con una asada de la bacteria. Se incuba a 37°C por 4 a 6 horas observando cada 30 minutos si existe coagulación del plasma. La coagulasa permite diferenciar *Staphylococcus aureus* (coagulasa positivo) del resto de especies de *Staphylococcus* (coagulasa negativos). Si la prueba de la coagulasa es negativa nos enfrentamos a un estafilococo diferente a *S. aureus*. Si la prueba de catalasa es negativa y hay hemólisis beta, alfa o gama responde a la presencia de estreptococos.

4.7 IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

4.7.1 Agar Mac Conkey. El mismo autor, sostiene que:

Es un medio selectivo por contener sales biliares y violeta cristal que inhiben el crecimiento de bacterias no entéricas. También es un medio diferencial porque contiene lactosa y un indicador de pH (rojo neutro). Las bacterias capaces de fermentar lactosa producirán un cambio en el pH del medio por liberación de productos ácidos. Como consecuencia sus colonias aparecerán de color fucsia/violeta contrastando con la coloración amarillenta de las colonias incapaces de fermentar la lactosa. Este medio de cultivo permite el crecimiento de todas las enterobacterias y las divide en dos: Lactosa positivo: colonias rosadas como *E. coli*, *Klebsiella* y *Enterobacter*. Lactosa negativo. Colonias incoloras como *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Proteus*, *Providencia*, *Edwardsiella* y *Serratia*⁶⁸.

4.7.2 Agar EMB:

Este medio contiene colorantes de azul de metileno y eosina Y, que inhiben las bacterias gram-positivas en cierto grado. Los colorantes también actúan como indicadores diferenciales en respuesta a la

⁶⁷ MIMSC, A., ROITT, M. Microbiology veterinary medical. Mosby. En: Cambridge Journals University. 2000 [en línea] [Fecha de consulta : 6 de junio de 2010] Disponible en internet: <http://bilbo.edu.uy/~microbio/indol.html>

⁶⁸ Ibid., p. 12.

fermentación de la lactosa o la sacarosa por parte de los microorganismos. Los coliformes producen colonias de color negro azulado, mientras que las colonias de *Salmonella* y *Shigella* son incoloras o de color ámbar transparente. Las colonias de *Escherichia coli* pueden exhibir un brillo verde metálico característico debido a la rápida fermentación de la lactosa⁶⁹.

4.7.3 Pruebas bioquímicas para identificación de enterobacterias:

4.7.3.1 TSI (Triple Sugar Iron). Fanhauser⁷⁰ sustenta que, el Triple Azúcar medio de hierro es un medio diferencial que puede distinguir entre una serie de negativos entéricos bacterias Gram en función de su capacidad fisiológica (o su falta). Es un medio diferencial complejo (de color rojo) compuesto por 3 azúcares: 10% lactosa, 10% sucrosa y 1% dextrosa y un ligador que es en este caso el hierro.

La siembra se realiza tanto en la superficie del agar (aerobiosis) como en la profundidad de este (anaerobiosis).

Para Hajna⁷¹ los resultados se reportan como:

K: Si el medio se torna rojo por la alcalinidad de la reacción producida se califica como K

A: Si el medio se torna amarillo por la acidez se califica como A.

K/A: Si la bacteria metaboliza solo la glucosa, en la superficie la utilizará por vía respiratoria, y donde la tensión de oxígeno disminuye lo suficiente, empleará una pequeña proporción por vía fermentativa. Esto generará una pequeña cantidad de ácidos que serán neutralizados por las aminas derivadas de la descarboxilación oxidativa de las proteínas. Como resultado, el medio mantendrá su color rojo en la superficie, al no haber cambiado de pH. Por el contrario, las bacterias crecidas en la profundidad emplearán desde el primer momento la glucosa por vía

⁶⁹ BD. EMB Agar (Eosin Methylene Blue Agar), Modified. 2009 [en línea] [Fecha de consulta junio 10 de 2010] Disponible en internet: <http://www.BD.com/resource.asp>

⁷⁰ FANKHAUSER, D. Use Triple Sugar Iron Agar. Universidad de Clermonti – College of Cincinnati 1994.[en línea] [Fecha de consulta 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: http://biology.clc.uc.edu/fankhauser/Labs/Microbiology/Triple_Sugar_Iron/TSI_Use.htm

⁷¹ HAJNA, A. Triple-sugar iron agar medium for the identification of the intestinal group of bacteria. J. Bacteriol. 1994. [en línea] [Fecha de consulta: 29 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/FUHBCEPAES-PA-254458.pdf>

fermentativa, generando ácidos que no serán neutralizados provocándose un descenso del pH y el color del medio en el fondo del tubo cambiará a amarillo.

A/A: Si la bacteria además fermenta lactosa, los ácidos producidos modificarán también el pH de la superficie del medio. Las aminos no son capaces de neutralizar la cantidad de ácidos producidos en esta fermentación, ya que la lactosa se encuentra en el medio a mayor concentración que la glucosa. El color del medio en la superficie cambiara a amarillo.

K/K: Si la bacteria es aerobia estricta (o fermentadora), el medio permanece de color rojo. Los azucares son respirados, degradándose completamente hasta CO₂, que se elimina y no modifica el pH.

A/A (g): Se reporta cuando hay aparición de burbujas, rotura o elevación del agar del fondo del tubo por la presencia del gas.

4.7.3.2 Citrato de Simons. Koser⁷², afirma que este medio indica la capacidad de las bacterias de metabolizar el citrato. Contiene citrato como única fuente de carbono, fosfato de amonio como única fuente de fosfato y azul de bromotimol como indicador de pH.

Simmons⁷³, añade que los microorganismos que metabolizan el citrato crecen abundantemente. El fosfato de amonio proporciona la fuente de nitrógeno, el magnesio actúa como cofactor de algunas reacciones metabólicas, el fosfato actúa como buffer, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar actúa como agente solidificante. Únicamente las bacterias capaces de metabolizar citrato podrán multiplicarse en este medio, al utilizar los fosfatos presentes liberan iones amonio (básicos) que junto con la eliminación de citrato (ácido) generará una fuerte basificación del medio que será aparente con un cambio de color del indicador de pH de verde a azul.

✓ **Método.**

Simmons nos sugiere: Suspender 24.2 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Dispensar en tubos de vidrio, tapar y esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Dejar enfriar en posición inclinada.

⁷² KOSER, A. Utilization of the salts of organic acids by the colon-aerogenes group. J. Bacteriol. 1992. [en línea] [Fecha de consulta: 25 de mayo de 2010] Disponible en internet: http://www.mcd.com.mxpdfsagar_simmons.pdf.

⁷³ SIMMONS, J. A culture medium for differentiating organisms of typhoid-colon aerogenes groups and for isolation of certain fungi. J. Infect. 1984 [en línea] [Fecha de consulta 25 de mayo de 2010] Disponible en internet: [.http://www.mcd.com.mxpdfsagar_simmons.pdf](http://www.mcd.com.mxpdfsagar_simmons.pdf).

Obtener un cultivo puro del microorganismo a ser probado. Tomar una colonia bien aislada a partir de un medio sólido. Sembrar por estría sólo la superficie inclinada del medio. Incubar los tubos con las tapas flojas a $35 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ durante 18 - 48 hrs⁷⁴.

4.7.3.3 LIA (Lisine Iron Agar). Lennette⁷⁵, afirma que el agar de Hierro y Lisina es un medio utilizado para la diferenciación de microorganismos entéricos en base a su capacidad para desaminar o descarboxilar la lisina y de producir sulfuro de hidrogeno. Este medio también es conocido como LIA. Medio diferencial para la detección de enterobacterias, especialmente Salmonella basada en la descarboxilación de la lisina, formación de sulfuro de hidrogeno y fermentación de la dextrosa.

Procedimiento: Bailón señala que “La consistencia del medio es solida en pico de flauta por esta razón la inoculación se llevará a cabo por picadura y estría. Necesita una incubación de 35 a 37°C de temperatura por 18 a 24 horas”.⁷⁶

Resultados: El mismo autor infiere que:

K/K: Si el tubo conserva su color lila. Se da cuando la descarboxilación de la lisina que se transforma en la amina cadaverina.

K/A: Fondo amarillo y parte inclinada lila. No hay descarboxilacion pero si hay fermentación de azucares.

R/A: Parte inclina roja y fondo amarillo. Ocurre desaminación de la lisina por la producción de acido alfa cetocarbónico⁷⁷.

⁷⁴ BBL. Simmons Citrate Agar Slants 1107504. 2007 [en línea] [Fecha de consulta 26 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/ES.pdf>

⁷⁵ LENNETTE, H., et al., Manual of Clinical Microbiology, 4ª edición. American Society for Microbiology, Washington, D. C. 2003. [en línea] [Fecha de consulta: 27 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.pmlmicro.com/assets/TDS470.pdf>

⁷⁶ BAILON, L., GONZALES, R., CERVANTES, A., Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias. Universidad Autónoma de México 2003. p. 112 [en línea] [Fecha de consulta 29 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.pmlmicro.com/assets/TDS/470.pdf>

⁷⁷ Ibid., p. 3.

4.7.3.4 Urea. Rustigian y Stuart⁷⁸ dicen que: la urea es un medio especialmente utilizado para la diferenciación de especies de *Proteus* de otros bacilos entéricos capaces de utilizar urea. El indicador de pH utilizado es el rojo fenol. Esta prueba detecta la presencia de la enzima ureasa en el metabolismo bacteriano, la cual al hidrolizar urea forma productos amoniacos que alcalinizan el medio y se evidencia con el cambio de color del medio desde un amarillo pálido hasta un rojo fucsia.

Ewing⁷⁹, describe que debe esterilizarse en el autoclave el medio base para la urea junto con tubos tapa rosca, una pipeta de 10 ml que en la punta lleva una torunda de algodón, un trozo de papel aluminio y una espátula. Cuando el medio base está a la temperatura adecuada se pesa la urea en el papel aluminio y se agrega al medio base disolviéndola. Con la pipeta estéril se toma el volumen a depositar en cada tubo y se deja solidificar. La urea no se esteriliza en autoclave porque se desnaturaliza.

4.7.3.5 SIM (Sulfuro Indol Movilidad). Para Martínez⁸⁰, la prueba de indol se emplea para detectar la presencia de la enzima triptofanasa en bacterias que degradan el aminoácido triptófano a indol. Al añadir el medio SIM el reactivo de Kovacs que contiene p – dimetilaminobenzaldehído, reacciona tanto con el indol como con el triptófano produciendo un anillo de color rojizo. Para evitar la interferencia del triptófano, el reactivo está disuelto en alcohol isoamílico inmiscible en agua. A diferencia del triptófano, el indol es soluble en el alcohol y solo este compuesto reaccionará con el aldehído produciendo el anillo coloreado característico de esta prueba. Se produce sulfuro positivo cuando se obtiene un color negro en el medio y el crecimiento positivo cuando hay crecimiento alrededor del punto de inoculación.

4.7.3.6 MRVP (Rojo de metilo). Moredo dice que:

Se inoculan con la bacteria un tubo con el caldo MRVP al que se le adicionará rojo de metilo.

⁷⁸ RUSTIGIAN, A., STUART. Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 47:108. 1941. [en línea] [Fecha de consulta: 29 de mayo de 2010] Disponible en internet: http://www.bd.com/ds/technicalcenter/inser/urea_media?.pdf.

⁷⁹ EWING. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4ª edición. Elsevier Science Publishing Co, Inc., New York, N.Y. 1985. [en línea] [Fecha de consulta: 29 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.pmlmicro.com/assets/TDS470.pdf>

⁸⁰ MARTÍNEZ, M., LÓPEZ, F. Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). En: Catálogo de cepas. Uruburu. Universidad de Valencia, 4ª Edición. España 1998. p 50. [en línea] [Fecha de consulta; 1 de junio de 2010. Disponible en internet: <http://www.um.es/f-quimica/lic-quimica/guia0607.pdf>

Las enterobacterias son anaerobias facultativos que utilizaran la glucosa en 2 fases:

- ✓ Metabolismo aeróbico consumiendo rápidamente el oxígeno del medio.
- ✓ Metabolismo anaeróbico (fermentación) que puede ser de 2 tipos dependiendo de los productos finales obtenidos.
- ✓ Fermentación ácido - mixta: los productos finales son ácidos orgánicos (fórmico, acético, láctico y succinato) y etanol.
- ✓ Fermentación butilén glicólica: los productos finales son compuestos neutros como el butanodiol y el etanol, produciéndose acetoina como intermediario.

La liberación de ácidos orgánicos generara un acusado descenso del pH que podrá ser detectado añadiendo al medio un indicador de pH como el rojo de metilo (rojo a pH 4.0). Si la fermentación que se ha llevado a cabo produce acetoina puede ser detectada añadiendo al medio KOH y alfa-naftol que reaccionarán con este compuesto produciendo el anillo rojo característico⁸¹.

4.8 CONDICIONES AMBIENTALES IDÓNEAS PARA EL CULTIVO EN EL LABORATORIO

Para Romero⁸², un medio se formula para suministrar todos los nutrientes que un microorganismo necesita para crecer, pero esto no es suficiente. En el laboratorio, también es preciso aportar las condiciones ambientales adecuadas. Tanto la temperatura como el pH deben estar dentro del intervalo apropiado; con respecto al oxígeno, según el caso, será aportado o eliminado.

4.8.1 Temperatura⁸³. Cada especie bacteriana se caracteriza por un intervalo de temperatura en el cual presenta su crecimiento óptimo. Pero, en general, los microorganismos crecen más rápidamente cuando se aumenta la temperatura, sin llegar hasta un punto en el cual se dañan las proteínas. Así pues, para favorecer un crecimiento rápido, las bacterias se suelen cultivar a la temperatura más alta a

⁸¹ MOREDO F. Pruebas fisiológicas y bioquímicas. En: curso de microbiología Vol. 1 .facultad de ciencias veterinarias Universidad Nacional de La Plata. 2003 [en línea] [Fecha de consulta: 15 de mayo de 2010] Disponible en internet: [www.fcv.unlp.edu.ar/.../ACTIVIDAD%20PRESENCIAL%20OBLIGATORIA %204%20bi](http://www.fcv.unlp.edu.ar/.../ACTIVIDAD%20PRESENCIAL%20OBLIGATORIA%204%20bi)

⁸² ROMERO, C. Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. Editorial Panamericana, 2º edición. México 2001.[en línea] [Fecha de consulta: 30 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.scribd.com/doc/395622/Manual-de-laboratorio>

⁸³ *Ibid.*, pp. 267,270

la cual crecen bien, y que suele ser la de su medio natural. Los cultivos se mantienen a temperatura constante en incubadoras o en baños de agua ambos controlados termostáticamente.

4.8.2 pH⁸⁴. El pH óptimo depende de la especie bacteriana, pero cada una de ellas crece en un intervalo de pH relativamente estrecho. Casi todas las bacterias crecen mejor a valores de pH próximos a la neutralidad, en el intervalo de 6,5 a 7,5. Sin embargo, los hongos crecen mejor entre 4,5 y 6,0. Aunque el pH de un medio sea el adecuado cuando se inicia el cultivo, a menudo el crecimiento microbiano lo modifica. Esto sucede porque algunos microorganismos usan selectivamente algún componente ácido o básico del medio; o bien, porque algún producto de su metabolismo es un ácido o una base. Para disminuir los cambios de pH en los medios definidos se suelen utilizar tampones. En los medios complejos no suele ser esencial, porque sus materiales naturales actúan como tampones débiles. Los tampones más eficaces para valores neutros de pH son los fosfatos y el carbonato cálcico.

4.8.3 Oxígeno. La concentración de oxígeno del medio es un determinante crítico para el crecimiento bacteriano. Algunos microorganismos, a los cuales se denomina aerobios estrictos, no pueden vivir sin oxígeno porque lo necesitan para obtener energía. Otros microorganismos, llamados anaerobios estrictos, no pueden vivir en presencia de oxígeno, para ellos es un agente tóxico. Otros tipos de organismos, como los anaerobios facultativos o los anaerobios aerotolerantes, pueden crecer tanto en presencia de oxígeno como en su ausencia. Los anaerobios facultativos utilizan el oxígeno si disponen de él, pero también pueden crecer sin él. Los anaerobios aerotolerantes no utilizan el oxígeno, pero tampoco les afecta negativamente. Por tanto, dependiendo del microorganismo que se vaya a cultivar, se tendrá que suministrar, restringir o eliminar el oxígeno⁸⁵.

4.9 OBSERVACIÓN DE BACTERIAS

4.9.1 Observación macroscópica. Según Díaz⁸⁶, el tamaño de las bacterias impide verlas a simple vista. Sin embargo, las colonias que forman sobre medios

⁸⁴ *Ibíd.*

⁸⁵ *Ibíd.*

⁸⁶ DÍAZ, M. Fundamentos y técnicas de análisis microbiológicos. En: Técnicas de observación de microorganismos. Laboratorio de Diagnóstico Clínico. 2º curso. Bloque temático III. Centro de Formación Profesional Instituto Villaverde. 2000 [en línea] [Fecha de consulta: 3 de febrero 2010] Disponible en internet: <http://www.rmu.org.uy/revista/2003v2/art4.pdf>

sólidos sí son visibles, y en ellas se puede estudiar una serie de características que nos ayudan a su identificación. A nivel morfológico, podemos estudiar la forma de las colonias, su tamaño, aspecto del borde (liso, rugoso, ondulado, ramificado, etc.), presencia de brillo, color, etc. Incluso sobre medio líquido las bacterias producen modificaciones de interés para su clasificación y que tienen que ver esencialmente con las características de su metabolismo. Así se observa si la turbidez es uniforme, si crecen en el fondo, si lo hacen en la zona superficial, si producen pigmentos, etc.

4.9.2 Observación microscópica. Rito⁸⁷, dice que puesto que la inmensa mayoría de las bacterias son incoloras, la única forma de observarlas bien en el microscopio óptico consiste en incrementar su contraste con respecto al medio. Esto se consigue mediante su teñido con colorantes o mediante la disposición de una óptica especial de contraste, generalmente de fases, en el microscopio. Para observar las bacterias teñidas, hay que proceder previamente a su fijación. Inicialmente se prepara un frotis a partir de medio líquido o dispersando en una gota de agua una porción de células crecidas en sólido. Posteriormente se deshidrata el frotis por calentamiento suave utilizando el reverso de la mano como control de temperatura tras pasar repetidamente el portaobjetos sobre la llama del mechero. Tras la fijación por calor se procede a la tinción.

⁸⁷ RITO, Z. Rompiendo paradigmas en la observación microscópica comunicación preliminar. En: anales de facultad de medicina. Volumen 64 ··N 004. Universidad nacional mayor de san marcos. Lima Perú pág. 267 273. 2006 [en línea] [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/379/37964412.pdf

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 TIPO DE ESTUDIO

El siguiente trabajo se realizó mediante análisis estadístico descriptivo utilizando los siguientes componentes: tablas, gráficos y medidas estadísticas, promedios, desviación estándar y porcentajes con sus correspondientes intervalos de confianza para la estimación de las variables de estudio.

5.2 LOCALIZACIÓN

El estudio se llevó a cabo en el frigorífico Jongovito S.A del municipio de Pasto, Nariño, ubicado en la vereda Jongovito km 5 vía Niza, ubicación georeferencial latitud norte 1° 13', longitud Oeste de Greenwich 77° 17', temperatura promedio 14° C, precipitación media anual de 84 mm, altura sobre el nivel del mar 2527

5.3 POBLACIÓN OBJETO Y MUESTRA

Para el presente estudio se tuvo en cuenta el total de decomisos por absceso hepático en el mes de abril de 2010 el cual fue de 65.

Se utilizó la siguiente fórmula para establecer la confiabilidad y margen de error del estudio:

$$e = \frac{Z^2 p (1-p)}{n}$$

Z = 1.64 (con una seguridad del 90%)

p = proporción esperada (en este caso 5% = 0.05)

e = error esperado (9%)

n= numero de abscesos muestreados

$$e = \frac{1.64^2 (0.369)(0.63)}{65}$$

$$e = 0.009$$

5.4 MATERIALES Y MÉTODOS

5.4.1 Materiales.

- ✓ Blusas blancas
- ✓ Guantes de látex
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Alcohol
- ✓ Algodón
- ✓ Escobillones estériles
- ✓ Medios de transporte
- ✓ Caldos enriquecedores como tioglicolato(en algunos casos)
- ✓ Placas
- ✓ Coloración de gran
- ✓ Agua oxigenada
- ✓ Suero de conejo
- ✓ Agares nutricionales y selectivos
- ✓ Caldos de enriquecimiento
- ✓ Cajas de petri
- ✓ Estufas
- ✓ Autoclave
- ✓ Cámara de flujo laminar
- ✓ Mechero
- ✓ Asas bacteriológicas
- ✓ Baterías bioquímicas
- ✓ Microscopio
- ✓ Aceite de inmersión
- ✓ Regla y metro

5.4.2 Métodos. Las muestras fueron recolectadas de vacas procedentes de la planta de sacrificio frigovito en la ciudad de Pasto durante el mes de abril de 2010.

La inspección de los hígados con absceso se realizó inmediatamente después de extraído el órgano del bovino. La muestra se obtuvo del absceso que después de la medición presentó mayor tamaño en cada hígado y después se determinó la localización visceral o parietal del absceso. Se tomaron las muestras realizando limpieza y desinfección del área a incidir, posteriormente mediante hoja de bisturí estéril se realizó incisión en el absceso para obtener el contenido a través de escobillones estériles. Una vez obtenida la muestra se almacenó en medio de transporte (Oxoid transport system) debidamente rotulados, que fueron llevados hasta el laboratorio de la Universidad de Nariño, para posteriormente procesarlos. Todos estos procedimientos se realizaron teniendo en cuenta las normas de bioseguridad.

Cada muestra fue sembrada en el medio de cultivo agar sangre, esperando su crecimiento 24 a 48 horas en aerobiosis a una incubación de 37°C. Al finalizar este periodo de tiempo se observó si hubo crecimiento bacteriano, y en caso de no lograr desarrollo del microorganismo se sembró nuevamente en anaerobiosis (mediante BBL CampyPak – Microaerophilic System Envelopes) y aerobiosis. Al no obtener colonias por ninguno de estos dos métodos se reportó como no crecimiento. A las bacterias que crecieron, se les realizó tinción de gram con el fin de clasificarlas como gram negativas o gram positivas y se observó el tipo de morfología que presentan, para elegir el protocolo adecuado según sean bacilos o cocos. A todas las bacterias se les hizo la prueba de catalasa, la cual fue positiva o negativa según el microorganismo.

Según el Manual de procedimientos de microbiología del laboratorio médico veterinario de la Universidad de Nariño se manejaron los siguientes protocolos:

- Cocos Gram positivos – catalasa (+). Fueron sembradas en el medio de cultivo sal manitol.
- Bacilos Gram positivos- catalasa (-): Estos microorganismos se clasificaron por análisis de su morfología.
- Bacilos Gram negativos - catalasa (+): Fueron sembrados en medio de cultivos EMB, y MacConkey. A los patógenos que se identificaron como MacConkey positivos y EMB negativos, se les realizó baterías bioquímicas (Citrato Simmons, LIA, SIM, TSI, urea, caldo MRVP)

La clasificación de las enterobacterias se realizó con base en la tabla de clasificación de Koneman (Anexo A)

La información obtenida se registró en bases de datos en Excel para su posterior análisis con el paquete estadístico Statgraphics plus 5.0.

5.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con el fin de alcanzar los objetivos propuestos en el estudio se adoptó el siguiente plan de análisis estadístico:

Una vez que se recogieron los datos, se realizó un análisis de tipo descriptivo para estimar las frecuencias en cada una de las variables. Lo anterior con el objetivo de realizar una caracterización de los abscesos hepáticos.

Debido a la naturaleza cualitativa de la información, se emplearon tablas de frecuencia y gráficos para organizar los datos y observar el comportamiento de la

población dentro de las categorías que se tomaron en cuenta para cada una de las variables, esto con el fin de realizar un análisis descriptivo acerca de los abscesos hepáticos de las vacas provenientes del frígovito de San Juan de Pasto en abril de 2010.

En todo el análisis, se utilizó un intervalo de confianza del 95% con un Valor de p menor a 0.05 para establecer la significancia estadística del estudio.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 CARACTERIZACIÓN DE ABSCESOS HEPÁTICOS

A partir de la información obtenida del estudio se realizó una caracterización del agente etiológico bacteriano, localización y tamaño de los abscesos de un total de 65 hígados decomisados en el frigorífico de San Juan de Pasto en el mes de abril de 2010.

6.1.1 Caracterización del agente etiológico bacteriano. En el cuadro 1 se relacionan los microorganismos aislados a partir de las 65 muestras recogidas de los abscesos hepáticos encontrando que el microorganismo de mayor presentación fue el *Staphylococcus no aureus* con un 36.92% del total de las muestras seguido de *E.coli* con un 32.31% y siendo el de porcentaje mínimo *Klebsiella sp* con un 1.54%.

Cuadro 1. Distribución de frecuencias para agente etiológico bacteriano de abscesos hepáticos.

MICROORGANISMO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<i>Staphylococcus no aureus</i>	24	36,92%
<i>E.coli</i>	21	32,31%
No crecimiento	8	12,31%
<i>Actinomyces sp.</i>	7	10,77%
<i>Proteus sp.</i>	4	6,15%
<i>Klebsiella sp.</i>	1	1,54%

Esto se puede relacionar con lo descrito por Dirksen⁸⁸, afirma que con mayor frecuencia esta patología se asocia a microorganismos que llegan al hígado a partir de una onfaloflebitis, en donde se encuentra como agentes causales a *E. coli*, especies de *Proteus*, especies de *Staphylococcus* y *Actinomyces pyogenes*, que pueden provocar grandes abscesos en el trayecto de la vena umbilical, que pueden llegar a alcanzar el hígado produciendo un gran absceso hepático.

⁸⁸ DIRKSEN, G; DIETER, H. y STOBER, M., Op. cit., p. 574.

En un estudio bacteriológico realizado por Kanoé⁸⁹, se determinó a *Staphylococcus* como especies causantes de absceso hepático. Encontró que en nueve de los cultivos se aisló especies de *Staphylococcus* y 3 especies de enterobacterias de un total de 66 cultivos.

Adicionalmente Doré⁹⁰, en su investigación también encontró a *Staphylococcus*, *Actinomyces spp.*, y *E.coli* como agentes etiológicos de absceso hepático en bovinos-

En contraste con estos resultados, Nagaraja⁹¹ afirma que es el *Fusobacterium necrophorum* el primer agente causal y *Actinomyces pyogenes* es el segundo patógeno más frecuentemente aislado de abscesos hepáticos

Según Dirksen⁹², los abscesos hepáticos causados por *Fusobacterium necrophorum* pueden iniciarse a partir de una retículo rumintis con lactoacidosis asociada.

El ácido láctico es el sustrato más importante para *Fusobacterium necrophorum*, y encuentra en las mucosas dañadas la capacidad de fijarse y diseminarse por vía hemática.

Según Correa⁹³ estas lactoacidosis se presenta en explotaciones muy tecnificadas donde el nivel de suplementación es alto. Es así que según Scanlan⁹⁴, la patogenia del *Fusobacterium* se desarrolla rápidamente cuando la alimentación es a base de una agresiva cantidad de grano (carbohidratos de fácil digestión y pobre en fibras), lo cual difiere de nuestro medio donde la alimentación es principalmente forrajera (gramíneas y leguminosas), es entre tanto que esta

⁸⁹ KANOÉ, M., Bacteriology of Bovine Hepatic Abscesses. División of Veterinary Science, Faculty of Agriculture. Yamagushi 1975. [en línea] [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://rms1.agsearch.agropedia.affrc.go.jp/contents/JASI/pdf/society/13-2163.pdf>

⁹⁰ DORE E. Liver Abscess in Holstein Dairy Cattle: 18 cases. J Vet Intern Med 2007. [en línea] [Fecha de consulta: 8 de junio de 2010] Disponible en internet: www3.interscience.wiley.com/journal/119819246/articletext?DOI...2007

⁹¹ NAGARAJA G., CHENGAPPA N., Liver Abscess in Feedlot Cattle: A review. Departamentos of Animal Sciences and Diagnostic Medicine and Pathobiology, Kansas State University, Manhattan 1998. [en línea] [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: www.jass.fass.org/cgi/content/short/76/1/287

⁹² DIRKSEN, G; DIETER, H y STOBBER, M. Op. cit., p. 574.

⁹³ CORREA H. Relación Entre Nutrición y Salud en Hatos. Rev. Med. Vet. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional de Colombia. 2009. [en línea] [Fecha de consulta: 8 de junio de 2010] Disponible en Internet: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rememez/article/viewfile/13933>

⁹⁴ BLOOD, D. y RADOSTITS, O. Medicina Veterinaria. 7^{ma} ed. México: Mc Graw- Hill Interamericana, 1992. p. 60.

puede ser una razón de la falta de presentación de *Fusobacterium* en los aislamientos realizados en este estudio.

Esto se relaciona con lo descrito por Brink y Lowry⁹⁵ en un estudio experimental donde se determinó los efectos de la alimentación sobre la severidad de los abscesos, en donde se encontró que la alimentación a base de grano reportó el porcentaje más alto con un 77% de incidencia de abscesos hepáticos en comparación con animales alimentados con alfalfa.

Respecto al grupo de no crecimiento, se puede relacionar a lo descrito por Lotfollazadeh⁹⁶ en su estudio bacteriológico de abscesos hepáticos donde a partir de 33 muestras, se determinó que el 9% se clasificó como no crecimiento. Adicionalmente Doré⁹⁷ reporta un caso de no crecimiento en su investigación.

Según Yazar*, dentro de las posibles causas de no crecimiento bacteriano se destacan la poca cantidad de inóculo en la muestra y el posible suministro de tratamiento antibiótico ante la muerte de los animales.

6.1.2 Localización de los abscesos hepáticos. En la figura 1 se puede apreciar que del total de las muestras recolectadas (65 muestras) los abscesos hepáticos se localizaron predominantemente a nivel de la cara parietal de los hígados con un 74% mientras que en la posición anatómica visceral con un 26%.

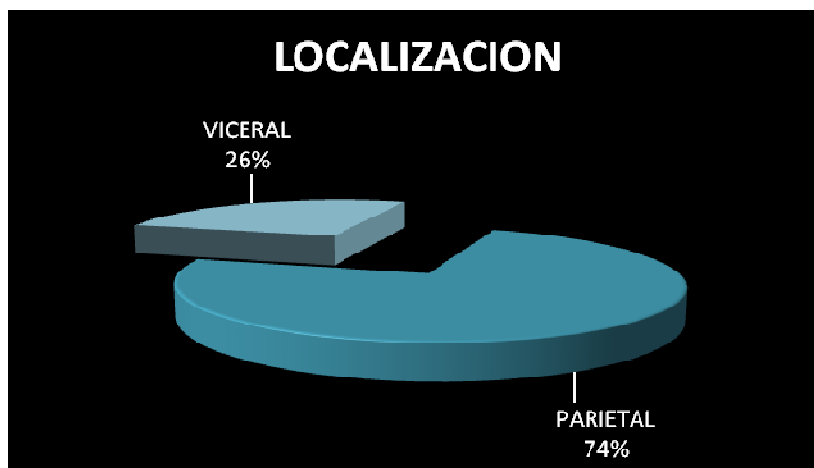
⁹⁵ BRINK D., LOWRY S., Severity of liver abscess and efficiency of feed utilization of feedlot cattle. Journal Animal Science 1990. [en línea] [Fecha de consulta: 24 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://jas.fass.org/cgi/reprint/68/5/1201>

⁹⁶ LOTFOLLAZADEH, S. ADBOLI, A. The Bacteriologic Study of Hepatic Abscess in Slaughtered cattle in Shahrekord Abattoir. Faculty of veterinary medicine, Azad university of Garmsar. International Society for Animal Hygiene, Saint Malo. 2004. [en línea] [Fecha de consulta: 24 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.isah-soc/documents/2004/lotfollazadeh.pdf>

⁹⁷ DORE E. Liver Abscess in Holstein Dairy Cattle: 18 cases. J Vet Intern Med 2007. [en línea] [Fecha de consulta: 8 de junio de 2010] Disponible en internet: www3.interscience.wiley.com/journal/119819246/articletext?DOI...2007

* ENTREVISTA con Angélica Yazar. Bacterióloga docente Universidad Nacional a Distancia. 7 de junio de 2010.

Figura 1. Distribución en porcentajes de la localización de los abscesos hepáticos



Para Dirksen⁹⁸, el cuadro clínico y curso de los abscesos hepáticos es muy variable dependiendo entre otras cosas de la localización que en consecuencia, pueden llegar a causar complicaciones. Un absceso ubicado cercano al diafragma (cara parietal), irrumpe en el parenquima pulmonar; con ello puede desarrollarse una fistula biliobronquial. Abscesos hepáticos voluminosos frecuentemente causan adherencias con los preeestomagos y trastornos del pasaje de la ingesta (cara visceral).

Según Nagaraja G., Chengappa, La distribución visceral o parietal de los abscesos en los lóbulos del hígado no tiene un patron definido⁹⁹.

6.1.3 Caracterización de tamaño de los abscesos hepáticos. En el cuadro 2 se puede apreciar el tamaño de los abscesos descritos en centímetros el mas pequeño presenta un tamaño de 1 cm, el de mayor tamaño es de 20 cm, y la media equivale a 6.01 cm.

Cuadro 2. Variabilidad de Tamaño

MÍNIMA	MEDIA	MÁXIMO	DESVIACIÓN TÍPICA
1	6.01	20	3,6566

⁹⁸ DIRKSEN, G; DIETER, H. y STOBER, M., Op. cit., p. 574.

⁹⁹ NAGARAJA G., CHENGAPPA N., Liver Abscess in Feedlot Cattle: A review. Departamentos of Animal Sciences and Diagnostic Medicine and Pathobiology, Kansas State University, Manhattan 1998. [en línea] [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: www.jass.fass.org/cgi/content/short/76/1/287

Esto coincide con lo descrito por Nagaraja y Chengappa¹⁰⁰, que afirman que el tamaño de los abscesos puede variar de 1 centímetro hasta más de 15 cm de diámetro.

Langwoth¹⁰¹, coincide en que se puede encontrar múltiples abscesos de tamaño diverso que incluso pueden llegar a medir hasta 20 cm de diámetro.

6.1.4 Asociación de variables. Con el fin de comparar la relación existente entre las distintas variables (microorganismo, localización y tamaño) se realizó un análisis de varianza utilizando Tamaño como variable dependiente y microorganismo y localización como factores.

En el cuadro 3 se describe la variabilidad de tamaño en comparación con localización y microorganismo como factores. Los P- valores comprueban la importancia estadística de cada uno de los factores que en este caso al tener un P- valor inferior al 0.05% es el *microorganismo* el factor que tiene un valor estadísticamente significativo sobre tamaño. Lo anterior es comprobable con la prueba de múltiples rangos. (Anexo A)

Cuadro 3. Análisis de Varianza para Tamaño vs. Microorganismo y localización de abscesos

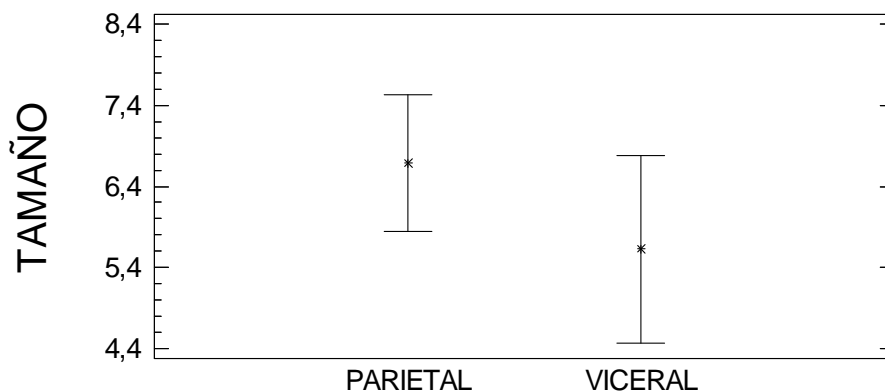
FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	COCIENTE-F	P-VALOR
EFFECTOS					
A: LOCALIZACIÓN	13,684	1	13,68	1,9	0,17
B: MICROORGANISMO	425,306	5	85,06	11,83	0
RESIDUOS	416,887	58	7,18		
TOTAL CORREGIDO	855,754	64			

¹⁰⁰ NAGARAJA, G., CHENGAPPA, N., Liver Abscess in Feedlot Cattle: A review. Departments of Animal Sciences and Diagnostic Medicine and Pathobiology, Kansas State University, Manhattan 1998. [en línea] [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: jass.fass.org/cgi/content/short/76/1/287

¹⁰¹ LANGWORTH, B. *Fusobacterium necrophorum*: Its Characteristics and Role as an Animal Pathogen. Bacteriological Reviews American Society for Microbiology. Vol. 41, No. 2. P, 373. 1977 [en línea] [Fecha de consulta 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: www.microbiologiaveterinaria.uchile.cl/.../0,1421,SCID%253D18273%2526SID%253D451,00.htm.

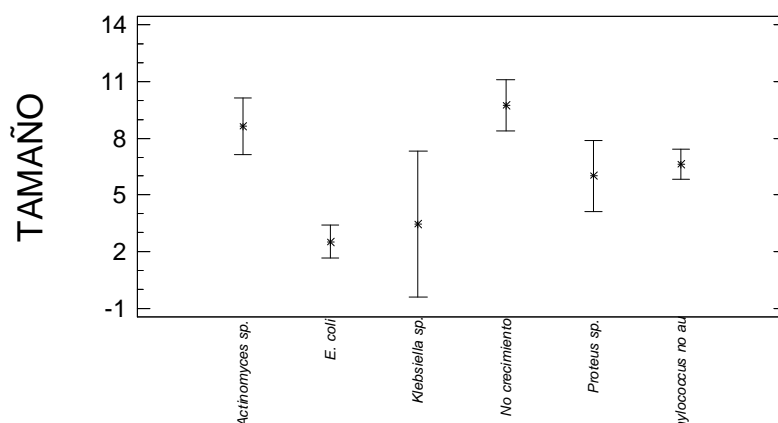
La figura 2 indica que aplicando el método LSD de comparación múltiple, no hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias a un nivel de confianza del 95 % por tanto decimos que la localización no es un factor que determina el tamaño de los abscesos hepáticos

Figura 2. Contraste de múltiples rangos para Tamaño según Localización



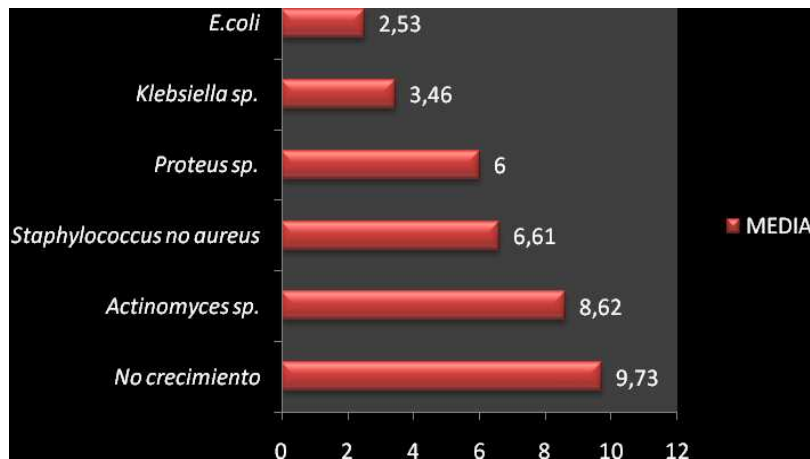
En la figura 3 se observa la distribución de las medias que utilizando el método LSD de contraste múltiple de rangos, muestra la diferencia estimada entre cada par de medias donde existen diferencias estadísticamente significativas con un 95% de confiabilidad.

Figura 3. Contraste de múltiples rangos para Tamaño según Microorganismo



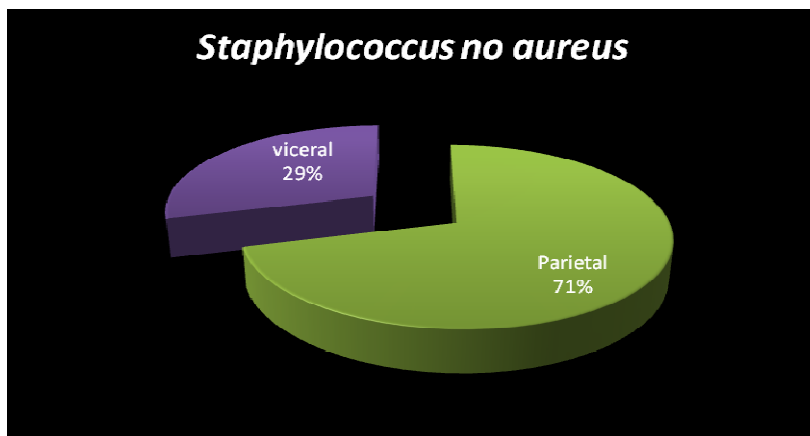
6.1.5 Caracterización de las variables Microorganismo Vs Tamaño. La figura 4 muestra la distribución de Tamaño para el factor microorganismo encontrando que la media de mayor tamaño es para el grupo de No crecimiento con un 9.73 centímetros mientras que la de menor tamaño es para *E. coli* con un tamaño medio de 2.53 centímetros

Figura 4. Distribución de las medias de Tamaño con respecto a Microorganismo



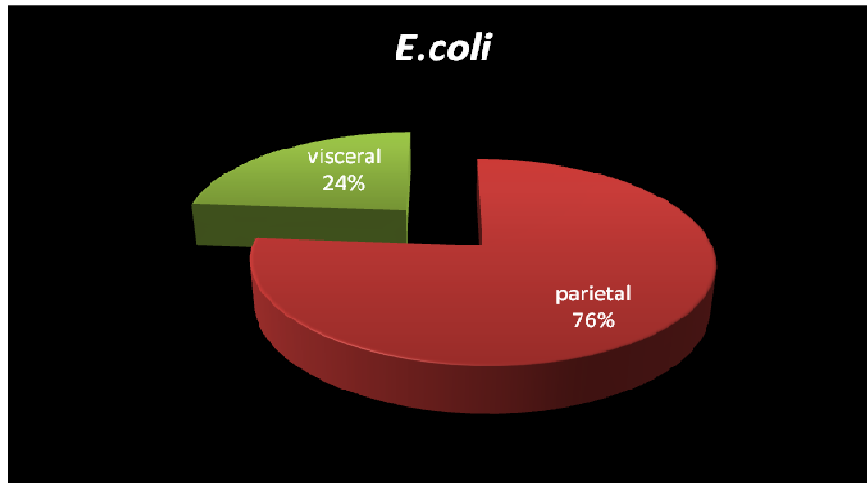
6.1.6 Caracterización de las variables Microorganismo Vs Localización. La figura 5 describe que la presentación anatómica para *Staphylococcus no aureus* es predominante a nivel parietal con un 71%, en contraste con la ubicación anatómica visceral que solo representa el 29%

Figura 5. Distribución en porcentaje de la localización anatómica de los abscesos hepáticos para *Staphylococcus no aureus*.



En la figura 6 se puede apreciar que la mayor presentación de los abscesos hepáticos según el microorganismo *E. coli* es a nivel parietal con 76%

Figura 6. Distribución en porcentaje de la localización anatómica de los abscesos hepáticos para *E.coli*



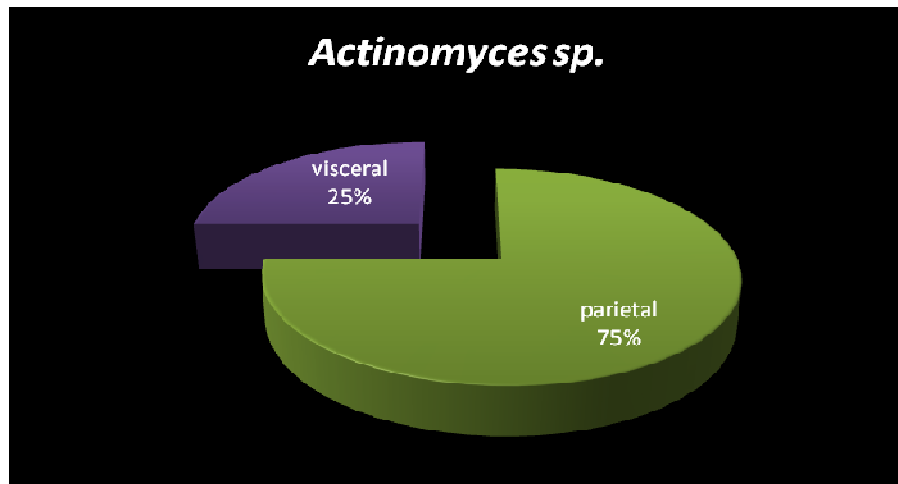
Los datos arrojados en el figura 7 indican que la región anatómica visceral representa el porcentaje máximo con un 75% y por el contrario la región anatómica parietal representa únicamente el 25%

Figura 7. Distribución en porcentaje de la localización anatómica de los abscesos hepáticos para no crecimiento.



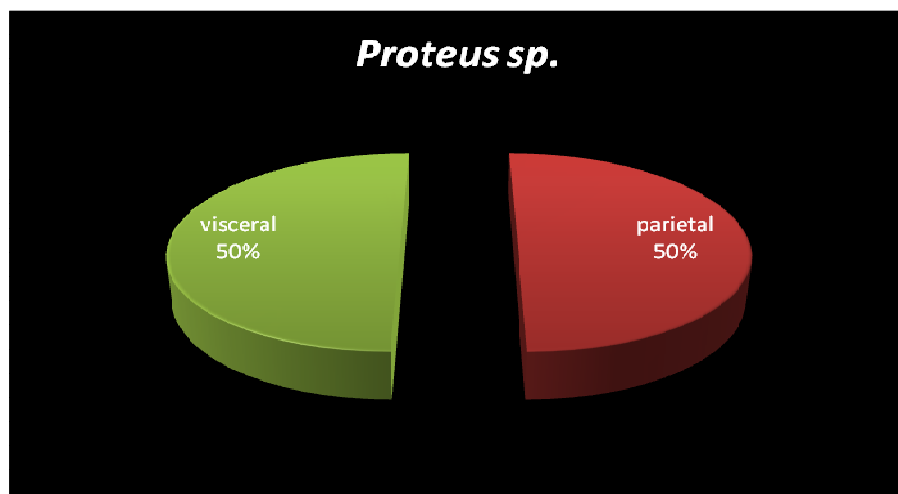
La figura 8 describe que la presentación anatómica para *Actinomyces sp.* es predominante a nivel parietal con un 75% en contraste con la ubicación anatómica visceral que solo representa el 25%.

Figura 8. Distribución en porcentaje de la localización anatómica de los abscesos hepáticos para *Actinomyces sp.*



La figura 9 describe que la presentación anatómica para *Proteus sp.* a nivel parietal es del 50% al igual que en la ubicación anatómica visceral que representa el 50%

Figura 9. Distribución en porcentaje de la localización anatómica de los abscesos hepáticos para *Proteus sp.*



6.1.7 Clasificación de tamaño. El cuadro 4 describe los grupos formados a partir de los pares de medias que tienen diferencias estadísticamente significativas con los otros, con sus respectivos intervalos de confianza.

Cuadro 4. Determinación de grupos a partir de medias estadísticamente diferentes (95% de confianza)

MICROORGANISMO	MEDIA	GRUPOS HOMOGÉNEOS	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
<i>E.coli</i>	2,53	X	1.29	3.76
<i>Klebsiella sp.</i>	3,46	X	(-) 1.95	8.89
<i>Proteus sp.</i>	6	X	3.31	8.68
<i>Staphylococcus no aureus</i>	6,61	X	5.47	7.75
<i>Actinomyces sp.</i>	8,62	X	6.51	10.72
<i>No crecimiento</i>	9,73	X	7.79	11.67
GENERAL	6.061		5.15	6.96

El criterio de la clasificación de los tamaños se hizo en base a los grupos homogéneos resultantes de la comparación de la medias del tamaño con respecto al agente causal, por medio del método LSD de contrastes múltiples de rangos (Anexo B).

El cuadro 5 describe la clasificación de los tamaños en pequeño, mediano y grande. Los de tamaño Pequeño (2.53 – 3.46 cm) corresponde a los microorganismos *Klebsiella sp.* y *E. coli*, los de tamaño Mediano (6 – 6.61 cm) para *Proteus sp.* y *Staphylococcus no aureus*, y los de tamaño Grande (8.62 – 9.73 cm) correspondiente a los microorganismos *Actinomyces sp.* y No crecimiento.

Cuadro 5. Clasificación de los Tamaños de los abscesos hepáticos

GRUPO	AGENTE ETIOLÓGICO	TAMAÑO (cm)
1. PEQUEÑO	<i>Klebsiella sp</i> - <i>E.coli</i>	2.53 - 3.46
2. MEDIANO	<i>Proteus sp.</i> - <i>Staphylococcus no aureus</i>	6 - 6.61
3. GRANDE	<i>Actinomyces sp.</i> <i>No crecimiento</i>	8.62 - 9.73

Correlacionando con lo descrito por Itabisashi¹⁰² en su estudio realizado mediante ultrasonografía identificó como abscesos hepáticos de tamaño pequeño a aquellos que midieron de 1-2 cm de diámetro, tamaño mediano a los de 5 cm y un tamaño grande de 13 cm.

En contraste Brink¹⁰³ clasifica los tamaños de los abscesos con respecto al número en que se presentan en el hígado. Así calificó como 0 a hígados sin absceso, A (-) de uno a dos abscesos pequeños (menos de 2.5 cm), A= de dos a cuatro abscesos pequeños (menos de 2.5 cm), A (+)= uno o mas abscesos grandes (mas de 2.5).

El no crecimiento en los abscesos de mayor tamaño, posiblemente se presento porque procedían de vacas que probablemente presentaban un curso crónico de la enfermedad, una sintomatología avanzada, y por lo tanto fueron sometidas a uno o varios tratamientos antibióticos que inhibieron el crecimiento bacteriano.

A pesar de los estudios citados anteriormente no se encontró estudios que determinen clasificación de los tamaños en base a existencia de relación entre agente etiológico y diámetro de los abscesos hepáticos

¹⁰² ITABISASHI T. Ultrasonogram of Hepatic Abscess in Cattle inoculated whit *Fusobacterium Necrophorum*. National Institute of Animal Health. Japan. [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://rms1.gsearch.agropedia.affrc.go.jp/contents/JASI/pdf/society/39-0381.pdf>

¹⁰³ BRINK, D. y LOWRY, S., Severity of liver abscess and efficiency of feed utilization of feedlot cattle. Journal Animal Science 1990. [en línea] [Fecha de consulta: 24 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://jas.fass.org/cgi/reprint/68/5/1201>

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los resultados de este estudio se emitieron las siguientes conclusiones:

De los aislamientos realizados el microorganismo de mayor presentación fue el *Staphylococcus no aureus* con un 36.92% del total de las muestras seguido de *E.coli* con un 32.31% y siendo el de porcentaje mínimo *Klebsiella sp* con un 1.54%.

Los abscesos hepaticos se localizaron predominantemente a nivel de la cara parietal de los higados con un 74% mientras que en la posicion anatomica vical se presentó un 26%.

Con respecto al tamaño de los abscesos se encontró que el más pequeño presenta un tamaño de 1 cm, el de mayor tamaño es de 20 cm, y la media equivale a 6.01 cm.

Al relacionar las variables se determinó que el microorganismo es un factor que influye sobre el tamaño de los abscesos.

La localización no es un factor que incide sobre el tamaño de los abscesos hepáticos para el presente estudio.

El microorganismo que presentó menor tamaño fue *E. coli* con 2.53 cm, y los de mayor tamaño fueron *Actinomyces sp.* de 8.62 cm, y el grupo identificado como No crecimiento con abscesos de 9.73 cm de diámetro.

Los abscesos se clasificaron en pequeño (2.53 – 3.46 cm) correspondiente a los microorganismos *Klebsiella sp.*, y *E. coli*, los de tamaño mediano (6 – 6.61 cm) para *Proteus sp.* y *Staphylococcus no aureus*, y los de tamaño grande (8.62 – 9.73 cm) correspondiente a los microorganismos *Actinomyces sp.* y No crecimiento.

7.2 RECOMENDACIONES

Realizar estudios epidemiológicos sobre el comportamiento de los abscesos hepáticos y asociarlo a los factores que predisponen su aparición para poder establecer planes de manejo y prevención de enfermedades y reducir de esta manera el nivel de perdidas.

Se considera que es importante que las plantas de sacrificio y los organismos encargados de la inspección ante y post-mortem de animales implementen trazabilidad para poder registrar datos de importancia epidemiológica como procedencia de cada animal, edad, sexo y decomisos, con el fin de que se puedan realizar estudios posteriores en los que se tengan en cuenta un mayor número de variables y se obtengan resultados de mayor relevancia.

Concientizar a los ganaderos de la importancia de realizar adecuados planes de manejo desde el nacimiento, con el fin de evitar el desarrollo de patologías predisponentes para los abscesos hepáticos, tales como la onfaloflebitis.

Es necesario que los ganaderos se asesoren con profesionales de la Medicina Veterinaria que les permitan realizar un manejo terapéutico adecuado de esta patología.

Realizar análisis bacteriológicos de la musculatura de bovinos que presenten abscesos hepáticos, para conocer en qué medida la carne se contamina en presencia de esta patología y las repercusiones que tienen en la salud de los consumidores.

BIBLIOGRAFÍA

BIBERSTEIN E., Tratado de Microbiología Veterinaria. Zaragoza-España: Acribia. 1896. 300 p.

BLOOD D., RADOSTITS O Medicina Veterinaria. Bogotá: Mc Graw-Hill Interamericana, 1992. 320 p.

CARTER G., CHENGAPPA M., Bacteriología y Micología Veterinarias. Bogotá: Manual Moderno, 280 p.

CASTAÑO, A., *Streptococcus agalactiae*: hasta ahora el único Streptococcus patógeno de tilapias cultivadas en Colombia. En: Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria de Zootecnia RFMVZ Vol 54, No 2 2007. [en línea] [Fecha de consulta: 31 de marzo de 2010].

COLOMBIA. Ministerio de salud. Decreto número 2278, (2 de agosto de 1982). En uso de las atribuciones que le confiere el ordinal tercero del Artículo 120 de la Constitución Política y la Ley 09 de 1979.

DAVIS, H. Evaluation of Quantum II microbiology system for identification of gram-negative bacteria of veterinary origin. En: Clinical microbiology Reviews. Vol. 7, No. 308931994.

DIRKSEN, G., DIETER, H., STOBBER, M., Medicina interna y Cirugía del Bovino. Volumen 1. 4ª ed. Bogotá: Intermedica Editorial. 600 p.

ENTREVISTA con Angélica Yarar. Bacterióloga docente Universidad Nacional a Distancia. 7 de junio de 2010.

GIULIODORI, M, *et al.* Prevalencia de abscesos hepáticos en animales de Feedlot en Argentina. Cátedra de Fisiología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata Argentina, Vol. 20, No 1, 2000.

LANGWORTH, B. *Fusobacterium necrophorum*: Its Characteristics and Role as an Animal Pathogen. Bacteriological Reviews American Society for Microbiology. Vol. 41, No. 2. P, 373. 1977 [en línea] [Fecha de consulta 28 de mayo de 2010].

LIMA, R., CASTILLO, R. Principales causas de decomiso de vísceras y su repercusión en los resultados finales de la unidad comercializadora "La Virina", v. 6, No 3, Marzo del 2005.

MARTÍNEZ G., CILIMA R., Principales causas de Decomiso de Vísceras rojas en el frigorífico del municipio de Pasto en el año 2008 [Tesis Pregrado] Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de ciencias pecuarias; 2009

NICOLET J., Compendio de Bacteriología Medica Veterinaria. Zaragoza-España: Acribia, 150 p.

RADOSTITS. O., BLOOD. D. Medicina Veterinaria. Volumen 1. 7^o ed. Bogotá: Mc Graw–Hill. 1992. 800 p.

SYLVIA, L., CHECKLEY, E. Efficacy of vaccination against *Fusobacterium necrophorum* infection for control of liver abscesses and footrot in feedlot cattle in western Canada. Food Safety Division Alberta Agriculture, Food and Rural Development. Canada 2005.

VADILLO S., PIRIZ S., MATEOS E. Manual de Microbiología Veterinaria. México: Mc Graw-Hill. 350 p.

NETGRAFÍA

ADNEY, W., JONES, R. Evaluation of the Rapid system for identification of anaerobic bacteria of veterinary origin. J. Clin. Microbiol. 1985 [en línea] [Fecha de consulta 10 de mayo de 2010] Disponible en internet: http://www.emscience.com/literatura/951953/_microbiology

ALTAMIRAS, J., WELSH, L. Cultivo y Aislamiento de Bacterias. En: Microbiología General, Tema 2.- Cultivo de microorganismos. 2001 [en línea] [Fecha de consulta 20 de marzo de 2010]. Disponible en internet: <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%202.%20Cultivo%20de%20microorganismos.pdf>

BAILÓN, L., GONZALES, R., CERVANTES, A., Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias. Universidad Autónoma de México 2003. p. 112 [en línea] [Fecha de consulta 29 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.pmlmicro.com/assents/TDS/470.pdf>

BBL. Simmons Citrate Agar Slants 1107504. 2007 [en línea] [Fecha de consulta 26 de mayo de 2010] Disponible en internet: http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/FUUSL007504%2806%29%280207%29_ES.pdf

BD. EMB Agar (Eosin Methylene Blue Agar), Modified. 2009 [en línea] [Fecha de consulta junio 10 de 2010] Disponible en internet: <http://www.BD.com/resource.asp>

BOLOWS, A. Manual of clinical microbiology. En: American society for microbiology [en línea] [Fecha de consulta marzo 20 de 2010] Disponible en: http://www.missouri.edu/~mmiwww/slides.htm_usa, pag 67 - 73

BOPP, C. BRENNER, P. Escherichia, Shigella, and Salmonella. En: Murray, P. R., E. J. Baron, Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum. Manual of microbiology. Washington [en línea] Disponible en internet: <http://bilbo.edu.uy/~microbio/RMVP.html>

BRINK, D., LOWRY, S., Severity of liver abscess and efficiency of feed utilization of feedlot cattle. Journal Animal Science 1990. [en línea] [Fecha de consulta: 24 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://jas.fass.org/cgi/reprint/68/5/1201>

CLAVELL, L., PEDRIQUE, M. Microbiología manual de métodos generales. En: selección de pruebas bioquímicas para la identificación de microorganismos. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela, Caracas [en línea] [Fecha de consulta: 2 de junio de 2010]. Disponible en: <http://bilbo.edu.uy/~microbio/citrato.html>

CORREA H. Relación Entre Nutrición y Salud en Hatos. Rev. Mes. Ver. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional de Colombia. 2009. [en línea] [Fecha de consulta: 8 de junio de 2010] Disponible en Internet: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/remvez/article/viewfile/>

COWAN, S. Manual for the identification of medical bacterial. En: England Cambridge university. 3ª edition. 2000 [en línea] [Fecha de consulta 1 de junio de 2010] Disponible en internet: <http://www.microbiologydetection%5eof/pdf>.

CUPP EW, DUKE BO, MACKENZIE CD, GUZMAN JR, VIEIRA JC, MENDEZ J, et al. The effects of long-term community level treatment with ivermectin (Mectizan) on adult *Onchocerca volvulus*. En: Latin America. Am J Trop Med Hyg (en línea). 2004; 71 (5). Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=15569792&itool=iconabstr Acceso: 15/11/07

DENGDI, A., SHICHUN, C. *Actinomyces ruminicola* sp. nov., isolated from cattle rumen. En: International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2006, [en línea] [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://ijs.sgmjournals.org/cgi/reprint/56/9/2043>

DEVRIESE, A., DEKEYSER, H. Prevalence of different species of coagulase-negative staphylococci on teats and in milk samples from dairy cows. J. Dairy Res 1980. [en línea] [Fecha de consulta: 1 de marzo de 2010] Disponible en internet: <http://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/issues/vet-05-29-2/vet-29-2-39-0310-21.pdf>

DÍAZ M. Fundamentos y técnicas de análisis microbiológicos. En: Técnicas de observación de microorganismos - 1 Laboratorio de Diagnóstico Clínico. 2º curso. Bloque temático III. Centro de Formación Profesional Instituto Villaverde. 2000 [en línea] [Fecha de consulta: 3 de febrero 2010] Disponible en internet: <http://www.rmu.org.uy/revista/2003v2/art4.pdf>

DOMINGO, M. El criterio de inspección de lesiones granulomatosas focales en el hígado de rumiantes. En: Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria. Barcelona, 31 de julio de 2006. [Fecha de consulta 20 abril de 2009]. Disponible en internet: <http://www.gencat.cat/salut/acsa/Du12/html/es/dir1623 / doc13215.html>.

DORE E. Liver Abscess in Holstein Dairy Cattle: 18 cases. J Vet Intern Med 2007. [en línea] [Fecha de consulta: 8 de junio de 2010] Disponible en internet: www.interscience.wiley.com/journal/119819246/articletext?DOI=.2007

EWING. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4ª edición. Elsevier Science Publishing Co, Inc., New York, N.Y. 1985. [en línea] [Fecha de consulta: 29 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.pmlmicro.com/assets/TDS470.pdf470>

FANKHAUSER, D. Use Triple Sugar Iron Agar. Universidad de Clermonti – College of Cincinnati 1994. [en línea] [Fecha de consulta 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: http://biology.clc.uc.edu/fankhauser/Labs/Microbiology/Triple_Sugar_Iron/TSI_Use.htm

FAO., Buenas Practicas para la Industria de la Carne. Manual FAO Salud y Producción Animal., Roma 2007 [Fecha de consulta: 7 de julio de 2010] Disponible en internet: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/y5454s/y5454s01.pdf>

FARROW, J., KRUIZE, B., PHILLIPS, A. Taxonomic studies on *Streptococcus bovis* and *Staphylococcus equinus*: description of *Staphylococcus alactolyticus* sp. nov. and *Staphylococcus saccharolyticus* sp. nov. Syst. Appl. Microbiol. 1984 [en línea] [Fecha de consulta: 1 de mayo de 2010] Disponible en internet: jsb.sgmjournals.org/cgi/reprint/52/4/1247.pdf

FERNANDO BACHA, et al. Nutrición, Patología Digestiva y Salud Intestinal Rumiantes En Cebo. Aspectos Practicos 2002 XVIII Curso de Especialización FEDNA, Barcelona, 143-159. *Coopiensos – NACCOOP S.A. [en línea] [Fecha de consulta 20 de marzo de 2010]. Disponible en internet: www.produccion-animal.com.ar

GALETTO, M; MARTIN, V. Aspectos bacteriológicos en el desarrollo de patologías del bovino. En: Departamento de Patología Animal UN.R.C. Río Cuarto, Argentina Medicina Veterinaria, Vol.16 (1) 1994. [en línea] [Fecha de consulta: 30 de mayo de 2010] Disponible en internet: www.microbiologiaveterinaria.uchile.cl/.../0,1421,SCID%253D18273%2526ISID%253D451,00.htm.

HAJNA, A. Triple-sugar iron agar medium for the identification of the intestinal group of bacteria. J. Bacteriol. 1994. [en línea] [Fecha de consulta: 29 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/FUHBCEPAES-PA-254458.pdf>

ITABISASHI, T. Ultrasonogram of Hepatic Abscess in Cattle inoculated with *Fusobacterium Necrophorum*. National Institute of Animal Health. Japan. [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://rms1.gsearch.agropedia.affrc.go.jp/contents/JASI/pdf/society/39-0381.pdf>

KANOE, M. Bacteriology of Bovine Hepatic Abscesses. División of Veterinary Science, Faculty of Agriculture. Yamagushi 1975. [en línea] [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://rms1.gsearch.agropedia.affrc.go.jp/contents/JASI/pdf/society/13-2163.pdf>

KONEMAN W. The Enterobacteriaceae in Diagnostic Microbiology. 5ª. Edición, Washington Square: Lippincott – Raven Publishers, 1997 [en línea] [Fecha de

consulta 29 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.medicina.unal.edu.co/Departamentod/Microbiologia/Docs>

KONEMAN, W., ALLEN, S., JANDA, M. The Role of the Microbiology Laboratory in the Diagnosis of Infectious Diseases: Guideline to Practice and Management. En: Diagnostic Microbiology. 5ª edición. Philadelphia. 1997 [en línea] [Fecha de consulta 20 de mayo de 2010] Disponible en internet: www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp4.pdf

KOSER, A. Utilization of the salts of organic acids by the colon-aerogenes group. J. Bacteriol. 1992. [en línea] [Fecha de consulta: 25 de mayo de 2010] Disponible en internet: http://www.mcd.com.mxpdfsagar_simmons.pdf.

LENNETTE, H., et al., Manual of Clinical Microbiology, 4ª edición. American Society for Microbiology, Washington, D. C. 2003. [en línea] [Fecha de consulta: 27 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.pmlmicro.comassetsTDS470.pdf470>

LOTFOLLAZADEH, S. ADBOLI, A. The Bacteriologic Study of Hepatic Abscess in Slaughtered cattle in Shahrekord Abattoir. Faculty of veterinary medicine, Azad university of Garmsar. International Society for Animal Hygiene, Saint Malo. 2004. [en línea] [Fecha de consulta: 24 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.isah-doc/documents/2004/lotfollazadeh.pdf>

MAC, F. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica .editorial panamericana. Argentina 2003. [en línea] [Fecha de consulta: 1 de junio de 2010] *Disponible en internet: <http://www.scribd.com/.../5-Tecnicas-Basicas-Para-EI-Cultivo-de-Microorganismos>*

MARTÍNEZ, M., LÓPEZ, F. Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). En: Catálogo de cepas. Uruburu. Universidad de Valencia, 4ª Edición. España 1998. p 50. [en línea] [Fecha de consulta; 1 de junio de 2010. Disponible en internet: <http://www.um.es/f-quimica/lic-quimica/guia0607.pdf>

MIMSC, A., ROITT, M. Microbiology veterinary medical. Mosby. En: Cambridge journals university. 2000 [en línea] [Fecha de consulta: 6 de junio de 2010] Disponible en internet: <http://bilbo.edu.uy/~microbio/indol.html>

MORALES, M., LUENGO, L. Decomisos y su importancia económica en mataderos de Chile. Tecno vet. N°1, marzo 1996. [En línea]. [Fecha de consulta 20 abril de 2009]. Disponible: [eninternet:http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9343%2526ISID%253D444,00.html](http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9343%2526ISID%253D444,00.html).

MOREDO, F. Pruebas fisiológicas y bioquímicas. En: curso de microbiología Vol. 1 facultad de ciencias veterinarias Universidad Nacional de La Plata. 2003 [en línea]

[Fecha de consulta: 15 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.fcv.unlp.edu.ar/.../ACTIVIDAD%20PRESENCIAL%20° BLI GA TORIA%20 4%20bi>

MURRAY, P., BARON E. Specimen Collection, Transport, and Storage. En: Manual of Clinical Microbiology 7th ed. American Society for Microbiology, Washington DC 1999 [en línea] [Fecha de consulta: 4 de junio de 2010] Disponible en internet: www.bvsops.org.uy/pdf/laboratorio.pdf

NAGARAJA, G., CHENGAPPA, N., Liver Abscess in Feedlot Cattle: A review. Departments of Animal Sciences and Diagnostic Medicine and Pathobiology, Kansas State University, Manhattan 1998. {Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010} Disponible en internet: <http://jas.fass.org/cgi/content/short/76/1/287>

ROMERO, C. Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. Editorial Panamericana, 2º edición. México 2001. [en línea] [Fecha de consulta: 30 de mayo de 2010] Disponible en internet: <http://www.scribd.com/doc/395622/Manual-de-laboratorio>

RITO Z. Rompiendo paradigmas en la observación microscópica comunicación preliminar. En: anales de facultad de medicina. Volumen 64 --N 004. Universidad nacional mayor de san marcos. Lima Perú pág. 267 273. 2006 [en línea] [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/379/37964412.pdf

RUSTIGIAN, A., STUART. Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 47:108. 1941. [en línea] [Fecha de consulta: 29 de mayo de 2010] Disponible en internet: http://www.bd.com/ds/technicalcenter/inser/urea_media?.pdf

SIMMONS, J. A culture medium for differentiating organisms of typhoid-colon aerogenes groups and for isolation of certain fungi. J. Infect. 1984 [en línea] [Fecha de consulta 25 de mayo de 2010] Disponible en internet: http://www.mcd.com.mxpdfsagar_simmons.pdf

SPICER, J. Microbiología clínica y enfermedades infecciosas. 2 edición, 2009 España, [en línea] [Fecha de consulta: 10 mayo de 2010] Disponible en internet: www.babcookinstitute.com

STANCHI, N., MARTINO, E. Microbiología Veterinaria. En: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología, 2007 [en línea] [Fecha de consulta: 28 de mayo de 2010] Disponible en internet: www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp4.pdf

WATTS J., YANCEY R., Identification of Veterinary Pathogens by Use of Commercial Identification Systems and New Trends in Antimicrobial Susceptibility

Testing of Veterinary Pathogens CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, 1994-
Vol. 7, No 3. 1994. [en línea] [Fecha de consulta: 10 de marzo de 2010] Disponible
en internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC358330/>

ZUAZO, J. Microbiología y Parasitología Médicas. En: Llop, A., Valdés – Dapena
M., Zuazo., J. Ed. Ciencia Médicas. Ciudad de La Habana. 2001. [en línea] [Fecha
de consulta: 1 de mayo] Disponible en internet:
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020209.html>

ANEXOS

Anexo A. Cuadro de clasificación de Enterobacterias

SUSTRATO	GENERO ENTEROBACTER						GENERO SERRATIA		GENERO PROTEUS		GENERO PROVIDENCIA - MORGANELLA			GENERO KIEBSIELLA	
	E. aerogenes	E. agglomerans	E. gergoviae	E. sakazakii	H. alvei	S. liquefaciens	S. marcescens	P. mirabilis	P. vulgaris	P. rettgeri	P. stuartii	M. morganii	Y. enterocolitica	Y. pestis	
TSI	A/A	K(A)/A	K(A)/A	/A	K/A	K(A)A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	
H ₂ S	-	-	+	-	-	-	-	++	++	++	-	-	-	-	
GAS	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	
LIA	K/K	K/K	K/K	/A	K/K	K/K	K/K	R/A	R/A	R/A	R/A	R/A	K/A	K/A	
CITRATO	+	Var	+	+	+	+	+	+(-)	-	+	+	+	-	-	
SIMONS	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	
UREA	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	
INDOL	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	
MOTILIDAD	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
ROJO DE	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
METILO	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
VOGES	+	+(-)	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
PROSKAVER	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	

Continuación ANEXO B

Anexo B. Contraste Múltiple de Rangos para Tamaño según Microorganismo

Método: 95,0 porcentaje LSD

	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos
E. coli	21	2,53129	0,618817	X
Klebsiella sp.	1	3,46883	2,70849	XX
Proteus sp.	4	6,0	1,3405	X
Staphylococcus	24	6,61201	0,570278	X
Actinomyces sp.	7	8,62059	1,04997	XX
No crecimiento	8	9,73441	0,96722	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
Actinomyces sp. - E. coli	*6,0893	2,34677
Actinomyces sp. - Klebsiella sp.	5,15176	5,74136
Actinomyces sp. - No crecimiento	-1,11382	2,78238
Actinomyces sp. - Proteus sp.	2,62059	3,40843
Actinomyces sp. - Staphylococcus no	2,00858	2,31667
E. coli - Klebsiella sp.	-0,937537	5,50513
E. coli - No crecimiento	*-7,20312	2,22976
E. coli - Proteus sp.	*-3,46871	2,95541
E. coli - Staphylococcus no	*-4,08072	1,6057
Klebsiella sp. - No crecimiento	*-6,26559	5,70516
Klebsiella sp. - Proteus sp.	-2,53117	6,04932
Klebsiella sp. - Staphylococcus no	-3,14318	5,49568
No crecimiento - Proteus sp.	*3,73441	3,30887
No crecimiento - Staphylococcus no	*3,1224	2,19185
Proteus sp. - Staphylococcus no	-0,612011	2,91602

* indica una diferencia significativa.