

DETERMINACION DE ENTEROBACTERIACEAS EN RACIONES
EXPERIMENTALES Y PIENSOS COMPUESTOS PARA ANIMALES
DOMESTICOS.

(DETERMINATION OF ENTEROBACTERIACEAE IN EXPERIMENTAL RATIONS AND
COMMERCIAL MIXED FOOD FOR DOMESTICAL ANIMALS).

por

M^a DOLORES PEREZ HERNANDEZ*

En el capítulo de las pérdidas en producción animal ocupan un lugar preferente las debidas a causas que perturban la sanidad de las poblaciones animales explotadas.

Si bien es cierto que son muy conocidas en patología infecciosa los agentes causales de enfermedades más o menos específicas, no disponemos de suficiente documentación del estado de contaminación microbiana de los piensos que habitualmente ingieren nuestros animales domésticos.

El presente trabajo tiene por objeto el estudio cuali-cuantitativo, en raciones experimentales y piensos de distintas casas comerciales, de gérmenes de la familia *Enterobacteriaceae*, por su importante protagonismo en procesos patológicos, principalmente en animales jóvenes, teniendo en cuenta que la presencia de algunos de sus géneros (*Salmonella*), por su incidencia patógena, está totalmente prohibida en los citados elementos.

Gedex (1974), en un estudio sobre alteraciones de los piensos por microorganismos, considera dos factores microbianos responsables de las afecciones de los animales a través de dichos alimentos. En primer lugar afirma que la presencia de una sola especie microbiana puede desencadenar una infección, y en segundo lugar señala que la proliferación microbiana en el pienso y sus toxinas potencian el desarrollo infeccioso.

Miranda García (1963) analiza muestras de harina de pescado de procedencia nacional y extranjera e investiga las bacterias pertenecientes a la familia que nos ocupa. En su trabajo señala la elevada concentración de enterobacterias existentes, si bien las especies aisladas, *E. coli*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *P. vulgaris*, *Klebsiella*

* Departamento de Microbiología. Prof. Dr. A. Garrido Contreras. Facultad de Ciencias. Sección C. Biológicas. Universidad de Córdoba (España).
Recibido para publicación el 1-12-78.

PEREZ HERNANDEZ: ENTEROBACTERIACEAS EN RACIONES PARA ANIMALES DOM.

y *Citrobacter*) no manifiestan un carácter eminentemente patógeno; lo que revela que la elaboración de dichas harinas se ha realizado sin la correcta aplicación de normas higiénico-sanitarias. A pesar de la reiterada investigación de salmonelas el citado autor no logra su aislamiento en ningún caso.

Contrariamente, Alves de Oliveira y col. (1966) afirman, a partir de los resultados obtenidos en su trabajo, la relativa frecuencia de la contaminación por *Salmonella* en harina de origen animal.

Tiews y col. (1970), al estudiar los daños provocados al ganado por la alimentación, logran reproducir el efecto perjudicial que ocasionó la muerte de varios terneros, alimentándolos experimentalmente con harina moderadamente contaminada con *E. coli*. Junto a esta especie sospechan la existencia de *Salmonella*, cuya presencia no llegan a demostrar mediante cultivo.

González Martínez (1974), analizando muestras de piensos y harinas de carne y pescado, señala la presencia de varias especies de *Salmonella* y *Proteus*, de marcado poder patógeno. Igualmente pone de manifiesto la existencia de especies de *Serratia* y *Arizona*, que presentan reacciones cruzadas con *Salmonella* e indica el error que puede cometerse en la identificación de *Salmonella* como único género contaminante de los piensos analizados.

Dzinic y col. (1976), al estudiar afecciones diarreicas en lechones destetados con harinas de maíz y girasol, detectaron como contaminantes de los piensos varios serotipos de *Salmonella*, *E. Coli* y *P. vulgaris*, que aislan de los contenidos intestinales de los animales muertos.

Los resultados obtenidos en los distintos trabajos realizados por los autores anteriormente citados nos llevan a considerar de gran interés el estudio higiénico-sanitario de las principales harinas que en nuestra región ingieren actualmente las diversas especies domésticas.

Material.

Durante los años 1976 y 1977 se recogieron 50 muestras de piensos, de las cuales el 20 p. 100 fueron raciones experimentales, preparadas ocasionalmente para distintas especies domésticas. El 80 p. 100 restante lo constituyeron piensos de diversas firmas comerciales de Andalucía.

Los alimentos básicos de las muestras estuvieron representados por varios tipos de cereales (maíz, avena, cebada, centeno, trigo) utilizando como correctores proteicos, semillas de leguminosas y en un número discreto de ellos, harina de pescado. Las muestras fueron analizadas según el orden de adquisición e inmediatamente después de la misma. En nuestros análisis hemos utilizado edios de cultivo deshidratado de Difco y Merck, para el enriquecimiento, aislamiento y determinación del comportamiento bioquímico.

El estudio serológico confirmativo se llevó a cabo con antisueros polivalentes Oy H de Difco.

Métodos.

En cada muestra se han realizado:

1. Determinación cuantitativa de enterobacterias mediante el recuento en placa según técnica de Mossel y col. y Willems y Thomas, modificada en nuestro trabajo.

2. Aislamiento en agar Mac Conkey, como medio selectivo. Paralelamente, y con el fin de potenciar el aislamiento de salmonelas, se empleó el medio de enriquecimiento del caldo tetracionato de Merck.

3. *Identificación.* El estudio morfológico se realizó mediante observación microscópica, previa tinción por el método de Gram. El estudio cultural se llevó a efecto mediante el examen de los cultivos tanto sólidos como líquidos. Así mismo los controles de motilidad se efectuaron en gota pendiente y mediante siembra en medios semisólidos.

Se han utilizado las pruebas bioquímicas que recomiendan Le Minor (1959), Kaufman (1966), Pohl y col. (1970), Elston y col. (1971), Eward y Ewing (1972) y Buchanan y col. (1974), a saber: presencia de oxidasa (Difco); reacción de Hugh y Leifson (Merck); reducción de nitratos (Merck); fermentación ácida-mixta y butilenglicólica, mediante las reacciones del rojo de metilo y de Voges-Proskauer (Merck), producción de hidrógeno sulfurado e indol en el medio de SIM (Difco); detección de ureasa (Difco); licuación de la gelatina (Difco); utilización del citrato de Christensen (Difco); desanimación de la fenilalanina y utilización del malonato (Merck); oxidación del gluconato (Merck); presencia de ornitina y lisina-decarboxilasa y arginina-dihidrolasa (Merck); utilización de los aniones ácidos citrato, tartrato y mucato (Kaufman y Petersen), presencia de la DNasa (Difco); fermentación de los azúcares lactosa, glucosa, sacarosa, manitol, culcitol, salicina, adonitol, inositol, sorbitol, arabinosa, rafinosa, ramnosa, xilosa, trehalosa, celobiosa (Difco), y producción de la galactosidasa mediante la reacción del ONPG (Merck).

Para la identificación serológica se ha dispuesto de la serie de antisueros (Difco) para la tipificación de *E. coli*, *Klebsiella*, *Salmonella* y *Shyella*.

Resultados.

1. Determinación cuantitativa de enterobacterias.

De las 50 muestras de piensos ensayadas, 36 resultaron contaminadas, eliminándose 13 de las muestras recibidas del comercio y 1 de las procedentes de raciones experimentales, por carecer de microorganismos o contener gérmenes no pertenecientes a la familia objeto de nuestro estudio.

2. *Identificación de las enterobacterias aisladas.*

Se identifican 95 cepas de enterobacterias cuyo comportamiento bioquímico se muestra en los cuadros II a VII. Puede apreciarse variabilidad en los resultados de una misma prueba para especies iguales que, situándose dentro del margen admitido en estos casos, denota la frecuencia mutacional de las especies, indicadora de la tipificación de las mismas.

La confirmación serológica se realizó en las especies de *E. coli* determinándose los siguientes serotipos: 026:K60:11 para la cepa 40₍₃₎, 018:K76:14 para las cepas 34₍₁₎ y 34₍₃₎, 044:K2418 para la 45₍₃₎ y 055:K59:NM para la 37₍₆₎.

Discusión.

Las 36 muestras contaminadas suponen el 72 p. 100 de los piensos analizados. El 25 p. 100 son raciones experimentales y el 75 p. 100, piensos del comercio. Puede apreciarse un elevado índice de contaminación, que oscila, en las muestras experimentales, desde 400 enterobacterias por gramo en la muestra número 11 a 15.000.000 en la número 8. En las muestras del comercio la contaminación varía de 200 enterobacterias por gramo, en la número 39, a 1.600.000 en la número 23.

Es de destacar un descenso en el nivel de contaminación de las muestras de fabricación comercial, atribuible a tratamientos que impiden el desarrollo microbiológico.

Según el criterio señalado por Willens y Thomas, de considerar muy sospechosa la harina que tenga una concentración de 50 enterobacterias por gramo, ninguna de las muestras contaminadas queda a salvo de esta clasificación, siendo en la mayoría tan superior a dicha cifra que, en relación con ella, las hace prácticamente inaceptables.

Aunque esta elevada concentración de bacterias entéricas son de gérmenes apatógenos, denotan que la elaboración, almacenaje o transporte de estas harinas están muy por debajo del esquema correcto que debe regularlas.

La presencia de *E. coli* en un 6,32 p. 100 de las cepas identificadas es similar a los resultados obtenidos por Miranda en harinas de pescado y por Dzinic y col. en harinas de maíz y girasol. Las cepas serológicamente identificadas no resultaron patógenas para el ratón.

La identificación de las distintas especies de enterobacterias está representada por un 88,42 p. 100 y se distribuyen en los siguientes porcentajes para las respectivas especies: *E. liquefaciens*, 2,11 p. 100; *E. aerogenes*, 9,47 p. 100; *E. cloacae*, 28,42 p. 100 y *E. hafniae*, 48,42 p. 100.

CUADRO I

RESULTADOS DE LA DETERMINACION
CUANTITATIVA DE ENTEROBACTERIAS

Nº de la muestra	Tipo de la muestra	Nº de Enterobacterias por gramo	Nº de los germenes aislados	Nº de la muestra	Tipo de la muestra	Nº de Enterobacterias gramo	Nº de los germenes aislados
1	M. Experimental	700	1 (1) Y 1 (2)	26	M. Comercial	12400.00	26 (1)
2	" "	4700	2 (1) 2 (2) Y 2 (4)	27	" "	1850.00	27 (1) 27 (2) 27 (3) Y 27 (5)
3	M. Comercial	2400	3 (1) 3 (2) 3 (4) Y 3 (5)	28	" "	17000.00	28 (1) 28 (2) 28 (3) Y 28 (4)
4	" "	—	—	29	" "	870.000	29 (1) 29 (2) 29 (3) Y 29 (4)
5	" "	42000	5 (1) 5 (2) 5 (3) 5 (4) Y 5 (5)	30	" "	95000	30 (1) 30 (2) 30 (3) Y 30 (4)
6	" "	140000	6 (1) 6 (2) Y 6 (3)	31	" "	200.000	31 (1) 31 (2) Y 31 (3)
7	" "	3000	7 (1) Y 7 (3)	32	" "	600.000	32 (1) 32 (2) Y 32 (3)
8	M. Experimental	15000000	8 (1) Y 8 (3)	33	" "	—	—
9	" "	5000000	9 (1) 9 (2) 9 (4) Y 9 (5)	34	" "	580000	34 (1) 34 (2) 34 (3) Y 34 (4)
10	" "	—	—	35	" "	2300	35 (1) 35 (2) Y 35 (3)
11	" "	400	11 (1)	36	" "	—	—
12	" "	12000	12 (1) Y 12 (4)	37	" "	680000	37 (1) 37 (2) 37 (3) 37 (4) 37 (5) Y 37 (6)
13	M. Comercial	400	13 (2)	38	" "	53000	38 (1)
14	" "	900	14 (1)	39	" "	—	—
15	" "	—	—	40	" "	330000	40 (1) 40 (2) Y 40 (3)
16	" "	—	—	41	" "	—	—
17	M. Experimental	14000	17 (4)	42	" "	—	—
18	M. Comercial	4500	18 (1) 18 (2) 18 (3) Y 18 (4)	43	" "	880000	43 (1) 43 (2) 43 (3) Y 43 (4)
19	" "	—	—	44	" "	1430000	44 (1) Y 44 (4)
20	" "	470000	20 (1) Y 20 (4)	45	" "	345000	45 (1)
21	M. Experimental	2300	21 (1) Y 21 (4)	46	" "	500	46 (1) Y 46 (2)
22	" "	33500	22 (1)	47	" "	—	—
23	M. Comercial	1600000	23 (3)	48	" "	135000	48 (1) 48 (2) Y 48 (4)
24	" "	—	—	49	" "	—	—
25	" "	—	—	50	" "	200	50 (1) Y 50 (2)

PEREZ HERNANDEZ; ENTEROBACTERIACEAS EN RACIONES PARA ANIMALES DOM.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS DE LAS
MUESTRAS PROCEDENTES DE RACIONES EXPERIMENTALES

CUADRO II

CERAS	Oxidasa	Hugh y Leifson	Nitrato	Indol	Rojo de metilo	Voges Proskauer	Citrato	SH ₂	Ureasa	K C N	Motilidad	Gelatina	L D C	A D H	O D C	Fenilalanina	Malonato	Gas Glucosa	Lactosa	Sacarosa	Manita	Dulcita	Salicina	Adonita	Inosita	Sorbitol	Arabinosa	Rafinosa	Rhamnosa	Xylosa	Trehalosa	Celobiosa	O N P G	Gluconato	DN asa	Citrato	Tartrato	Mucato			
1(1)	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	E. herbicola		
1(2)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	E. herbicola	
2(1)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	E. hafniae	
2(2)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	E. hafniae	
2(4)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. aerogenes	
8(1)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. aerogenes	
8(3)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. herbicola	
9(1)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. aerogenes	
9(2)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. aerogenes	
9(4)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. aerogenes	
9(5)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. aerogenes	
11(1)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae	
12(2)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
12(4)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
17(4)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. quercina
21(1)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. aerogenes
21(4)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. aerogenes
22(1)	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. herbicola

Nº Muestra estudiada
(Nº) Capas aisladas de las muestras

O D C = Ornitina descarboxilasa
A D H = Arginina dihidrolasa
L D C = Lisina decarboxilasa

Hugh y Leifson = + fermentativo

PEREZ HERNANDEZ; ENTEROBACTERIACEAS EN RACIONES PARA ANIMALES DOM.

CUADRO III
RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS DE LAS
MUESTRAS DE FABRICAS Y CASAS COMERCIALES

CEPAS	Oxidasa	Hugh y Leifson	Nitrato	Indol	Rajo de metilo	Voges Proskauer	Citrato	SH ₂	Ureasa	KCN	Motilidad	Gelatina	LDC	ADH	ODC	Fenilalanina	Malonato	Gas Glucosa	Lactosa	Sacarosa	Manita	Dulcita	Salicina	Adonita	Inosita	Sorbitol	Arabinosa	Rafinosa	Rhamnosa	Xylosa	Trehalosa	Celobiosa	ONPG	Gluconato	DNasa	Citrato	Tartrato	Mucato	E. cloacae	E. cloacae	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. cloacae	E. cloacae	E. hafniae					
3(1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+								
3(2)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
3(4)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+						
3(5)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
5(1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
5(2)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
5(3)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
5(4)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
5(5)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
6(1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
6(2)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
6(3)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
7(1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
7(3)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
13(2)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
14(1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

PEREZ HERNANDEZ; ENTEROBACTERIACEAS EN RACIONES PARA ANIMALES DOM.

CUADRO IV
 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS DE LAS
 MUESTRAS DE FABRICAS Y CASAS COMERCIALES

CEPAS	18(1)	18(2)	18(3)	18(4)	20(1)	20(4)	23(1)	26(1)	27(1)	27(2)	27(3)	27(5)	28(1)	28(2)	28(3)	28(4)	
Oxidasa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae
Hugh y Leifson	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. aerógenas
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. hafniae
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae
Rojo de metilo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae
Voges Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. cloacae
Citrato	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. cloacae
SH ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Ureasa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
K C N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. cloacae
Motilidad	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. cloacae
Gelatina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
L D C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
A D H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
O D C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Fenilalanina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Malonato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Gas Glucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Lactosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. cloacae
Sacarosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. cloacae
Manita	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. cloacae
Dulcita	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Salicina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. cloacae
Adonita	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Inosita	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Arabinosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Rafinosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Rhamnosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Xylosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Trehalosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Celobiosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
O N P G	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. cloacae
Gluconato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
DN asa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Citrato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Tartrato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
Mucato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae

CUADRO VI

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS DE LAS MUESTRAS DE FABRICAS Y CASAS COMERCIALES

CERPS	Oxidasa	Hugh y Leifson	Nitrato	Indol	Rojo de metilo	Voges Proskauer	Citrato	SH ₂	Ureasa	K C N	Motilidad	Gelatina	L D C	A D H	O D C	Fenilalanina	Malonato	Gas Glucosa	Lactosa	Sacarosa	Manita	Dulcita	Salicina	Adonita	Inosita	Sorbitol	Arabinosa	Rafinosa	Rhamnosa	Xylosa	Trehalosa	Celobiosa	O N P G	Glucanato	DN asa	Citrato	Tartrato	Mucato			
34(3)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. coli	
34(4)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae	
35(1)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae	
35(2)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae	
35(3)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae	
37(1)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae	
37(2)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae	
37(3)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae	
37(4)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae	
37(5)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae	
37(6)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. coli	
38(1)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. cloacae
40(1)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae
40(3)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. coli
40(5)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae
43(1)	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E. hafniae

CUADRO VII

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS DE LAS
MUESTRAS DE FABRICAS Y CASAS COMERCIALES

CEPAS	Oxidasa	Hugh y Lefson	Nitrato	Indol	Rojo de metilo	Voges Proskauer	Citrato	SH ₂	Urea	KCN	Motilidad	Gelatina	LD C	A D H	O D C	Fenilalanina	Malonato	Gas Glucosa	Lactosa	Sacarosa	Manita	Dulcita	Salicina	Adonita	Inosita	Sorbitol	Ardinosa	Rafinosa	Rhamnosa	Xylosa	Trehalosa	Celobiosa	ONP G	Gluconato	DNSA	Citrato	Tartrato	Mucato						
	E. coli	E. hafniae	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. coli	E. liquefaciens	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. coli	E. liquefaciens	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. hafniae	E. coli	E. liquefaciens	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. cloacae	E. coli	E. liquefaciens	E. hafniae	E. cloacae	E. hafniae	E. coli						
43(2)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-					
43(3)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-			
43(4)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
44(2)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
44(4)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
45(3)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
46(1)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
46(2)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
48(2)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
48(3)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
48(4)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
50(1)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
50(2)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Miranda aísla también *E. cloacae* y *E. aerogenes* en las muestras que analiza. La presencia de estas especies es totalmente aceptable, dado que su hábitat natural (Buchanan y col., 1974) es el suelo, agua y heces de animales, a partir de los cuales pueden contaminarse los piensos con gran facilidad, si las condiciones de fabricación de los mismos no son higiénicas. Por tratarse de especies no patógenas, su presencia en número relativamente elevado no incide gravemente en la alimentación animal.

Las especies de *Erwinia* aisladas en un 5,26 p. 100 (*E. herbicola*, 4,21 p. 100, y *E. quercina*, 1,05 p. 100) demuestran la contaminación de las semillas de donde se obtuvieron las correspondientes harinas. Buchanan y col. indican que son responsables del deterioro de los *Quercus* (la cepa 174, de la que aislamos *E. quercina*, procedía de una ración experimental cuya composición era fundamentalmente harina de bellota), así como de algunos cereales (concretamente, el maíz), componente de las raciones experimentales en las que se han encontrado las especies de *E. herbicola*.

En nuestras muestras no se observaron salmonelas ni otras enterobacterias patógenas que detectan en sus trabajos Miranda, González Martín y Dzinic y col., lo cual puede atribuirse a la constitución esencialmente de tipo vegetal de las muestras analizadas en este estudio. Igualmente es explicable por el control previo realizado en las distintas casas comerciales.

Los granulados analizados presentan la característica común de ausencia total de gérmenes, lo cual es atribuible a la temperatura y desecación que se producen en este proceso, provocando la esterilización de los piensos cometidos al mismo.

Conclusiones.

1. En el análisis bacteriológico realizado en 50 muestras de piensos compuestos y raciones experimentales para la alimentación de animales domésticos, 36 estaban contaminadas con enterobacterias, oscilando el índice de contaminación desde 200 a 15.000.000 de gérmenes por gramo de muestra analizada.

2. Se aíslan 95 cepas de enterobacterias que se identifican y clasifican de la siguiente forma: Pertenecientes al género *Enterobacter*: *E. hafniae* 46, *E. cloacae* 27, *E. aerogenes* 9 y *E. liquefaciens* 2. El género *Erwinia* está representado por *E. herbicola* 4 y *E. quercina* 1. Las especies de *E. coli* se encuadran en cuatro tipos serológicos distintos 018:K:76:14, 2 cepas, 026:K60:11, 1 cepa, 044:K24:18,2 cepas y 055:K59:NM, 1 cepa.

3. La elevada concentración de enterobacterias que aparece en la totalidad de las muestras de piensos contaminadas, a pesar de su carácter apatógeno, indica que su elaboración, almacenaje o transporte se ha realizado sin la correcta aplicación de las normas higiénico-sanitarias.

PEREZ HERNANDEZ: ENTEROBACTERIACEAS EN RACIONES PARA ANIMALES DOM.

4. Dada la presencia de gérmenes apatógenos en los piensos estudiados, no se preven dificultades graves en la alimentación de las diferentes especies consumidoras de los mismos.

Resumen.

Se someten a análisis bacteriológico 50 muestras de piensos compuestos y raciones experimentales para animales domésticos, resultando 36 (72 p. 100) contaminadas por enterobacteriáceas, con un límite de contaminación de 200 a 15.000.000 de gérmenes por gramo de muestra analizada. Las especies aisladas se clasifican de la forma siguiente: *E. hafniae* (48,42 p. 100), *E. cloacae* (28,42 o. 100), *E. aerogenes* (9,47 p. 100), *E. liquefaciens* (2,11 p. 100), *E. herbicola* (4,21 p. 100), *E. quercina* (1,05 p. 100) y *E. coli* (6,32 p. 100), quedando estas últimas encuadradas en los serotipos: 018:K76:14,026:K60:11, 044:K24:18 y 055:K59:NM.

Summary.

It has been done a bacteriological screening to detect enterobacteriaceae in 50 samples of experimental rations and commercial mixed food for domestic animals. We have found that 36 samples (72 p. 100) were contaminated with enterobacteries. The limits of contamination were between 200 - 15×10^6 organisms/g.

The strains isolated belong to the species: *E. hafniae* (48,42 p. 100), *E. cloacae* (28,42 p. 100), *E. aerogenes* (9,47 p. 100), *E. liquefaciens* (2,11 p. 100), *E. herbicola* (4,21 p. 100), *E. quercina* (1,05 p. 100) and *E. coli* (6,32 p. 100). These last ones had the serotypes 018:K76:14, 0,26:K60:11, 044:K24:18 and 055:K59:NM.

Agradecimiento.

Al Prof. Dr. D. Antonio Garrido Contreras, cuya dirección y ayuda incondicional han hecho posible la realización del presente trabajo.

Al Ministerio de Educación y Ciencia, por la concesión de una beca de formación de personal investigador, gracias a la cual se ha podido llevar a cabo este estudio.

A la cátedra de microbiología de la Facultad de veterinaria de Córdoba, por la desinteresada colaboración, mediante la aportación de sus medios y equipo investigador.

Bibliografía.

- Alves de Oliveira, J. y col., 1966.—Tipos serológicos de Salmonellas identificados en productos de origen animal. *B. Pecuário*, 34: 73-85.
- Buchanan, R. E. y N. E. Gibbons, 1974.—*Bergey's manual of determinative bacteriology*. The Willians and Wilkins Company. Baltimore.
- Dzinic, M., H. A. Beganovic, N. Nadazidin, A. Milanovic, B. Hrustanovic y B. Vidanovic, 1976.—Sobre los efectos terapéuticos y preventivos de algunos preparados en la diarrea de los lechones. *P. Veterinario*, 4: 183-191.
- Edwards, P. R. y W. H. Edwing, 1972.—*Identification of Enterobacteriaceae*. Bourges Publ. Company. Atlanta. Georgia.
- Elston, H. R., J. A. Baudo, J. P. Stanek y M. Schaab, 1971.—Multibiochemical test system for distinguishing enteric and other Gram-negative bacilli. *Apl. Microbiol.*, 22: 408-414.
- Gedec, Br., 1974.—Möglichkeiten und Grenzen der mikrobiologischen Futtermittelkontrolle. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 81: 37-65.
- González Martínez, M. 1974.—Análisis bacteriológico de piensos. Salmonellas y otros microorganismos que pueden inducir a error en el diagnóstico. *Veterinaria*, 5-6: 200-211.
- Kaufmann, F., P. R. Edwards y W. H. Edwing, 1966.—The principles of group differentiation within the enterobacteriaceae by chemical methods. *Int. Bull. Bact. Nom. Taxon.*, 6: 29-33.
- Le Minor, L., 1959.—Le diagnostic de laboratoire des entérobactéries. E. de la Tourelle. Le Seine. Paris.
- Miranda García, A. 1963.—Estudio de enterobacterias aisladas de harinas de pescado destinadas a la alimentación animal. *Anales de la Universidad Hispalense*, 23: 9-80.
- Mossel, A., G. Eijgelaar, y H. Hensel, 1958.—Betrachtungen über die Durchführung der hygienisch bakteriologischen Beurteilung von Fischmehl. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 9: 3-6.
- Pohl, P., J. Thomas y E. Van Oye, 1970.—*Identification des Enterobacteriaceae*. *Rev. Ferment. Ind. Alim.*, 25: 4.
- Tiews, J., H. Zucker y J. Gropp, 1970.—Daños debidos a la alimentación de los animales. *P. Veterinario*, 5: 213-220.
- Willems, R. y J. Thomas, 1959.—Controle bacteriologique des farines animales. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 52: 212-222.