



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE PUEBLA**

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

LICENCIATURA EN QUÍMICO

FARMACOBIOLOGO



TESIS

**“FRECUENCIA DE *Salmonella* spp. EN HECES DE PERROS
DOMÉSTICOS EN PUEBLA”.**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:
LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

PRESENTA:

p.QFB. ÁNGELES MITZY SALEM HERNÁNDEZ

DIRECTORA:

D.E.D. CLAUDY LORENA VILLAGRÁN PADILLA

CO-DIRECTORA:

D.C. ALMA LÓPEZ GARCÍA

FECHA: MARZO 2024

DEDICATORIA

A mis padres, por ser los principales pilares a lo largo de este trayecto, gracias por todo el apoyo, comprensión y amor incondicional que me brindaron en los momentos más difíciles que se me han presentado. Agradezco todos los valores que me transmitieron y consejos dados; esto fue fundamental para forjar un camino que me ayudara a cumplir una de las metas más grandes en mi vida. Los amo y admiro, infinitas gracias por darme parte de los regalos más valiosos que existen en la vida.

AGRADECIMIENTOS

A mis amigos, por todos los momentos compartidos, por incondicional apoyo y consejos brindados. Gracias por acompañarme en todo este trayecto que juntos recorrimos, me llena de felicidad que juntos hemos llegado a la meta, los quiero mucho.

A Ángel de Jesús, por su amistad y apoyo en este proyecto. Gracias por ser un gran compañero y trabajar a mi lado.

A Judith Gissel, por ser mi amiga y compañera, por regalarme momentos a tu lado que atesoraré toda la vida, eres una gran persona que quiero y aprecio mucho, gracias por hacer esta estadía más amena y ser mi compañera principal dentro y fuera de la universidad.

A Pedro Mixtega, por ser mi mejor amigo y pareja en este periodo tan importante en mi vida. Tu apoyo, comprensión y amor han sido reconfortantes a lo largo de todo el trayecto. Gracias infinitas por todo el apoyo que recibí de tu parte en la recolección de muestras, eres una persona llena de valores y un gran compañero de vida.

A mi tía y prima, por su amor y acogimiento en los inicios de esta etapa, su ayuda ha sido fundamental para lograrlo, las quiero y estaré agradecida eternamente.

A mis hermanos y a la señora Laura, por el acompañamiento, comprensión y amor que me brindaron en esta etapa.

A las doctoras Claudy Lorena y Alma, gracias por aceptar trabajar conmigo y ser mi mano derecha en todo este proyecto, sus consejos han sido un pilar fundamental, no hay palabras para agradecer toda su dedicación y atención brindada. Me llevo una buena experiencia al trabajar con ustedes.

A mi comisión revisora, por su tiempo y consejos brindados los cuales fueron de gran ayuda para elaborar un gran trabajo.

CONTENIDO

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	7
MARCO TEÓRICO	8
<i>Salmonella</i>	8
El perro como reservorio zoonótico de <i>Salmonella</i>	13
Contexto de <i>Salmonella</i> en México	15
Aislamiento de <i>Salmonella</i> en muestras caninas	16
MARCO DE REFERENCIA	22
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
JUSTIFICACIÓN	27
OBJETIVOS	28
HIPÓTESIS	30
DISEÑO METODOLÓGICO	31
Tipo de estudio	31
Tamaño de la muestra	31
Sede y lugar de estudio	31
Criterios de selección.....	32
Recursos humanos.....	32
Recursos financieros.....	32
Diseño estadístico	32
MATERIALES Y MÉTODO	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
CONCLUSIONES	46
ANEXOS	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de clasificación taxonómica del género <i>Salmonella</i> spp.....	7
Figura 2. Identificación de las cepas más frecuentes de Enterobacteriales.	19
Figura 3. Resultados de la resistencia antimicrobiana de los aislamientos de <i>Salmonella</i> spp., de acuerdo con el tipo de antibiótico y país de realización del estudio.	20
Figura 4. <i>Salmonella</i> -prevalencia en perros en 2015-2021 (de menor a mayor prevalencia de <i>Salmonella</i> [%]).....	24
Figura 5. Porcentaje de razas de perros muestreados.	38
Figura 6. Representación del rango de edad y genero de los perros muestreados	38
Figura 7. Medio <i>Salmonella</i> – <i>Shiguella</i> con colonias productoras de ácido sulfhídrico y lactosa negativa, sospechosas de ser <i>Salmonella</i> , cepa 92 (izquierda) y cepa 94 (derecha).....	39
Figura 8. Fotografías de 3 diferentes colonias de las 50 observadas, donde se observan cocos gramnegativos (A), y bacilos gramnegativos (B y C). 100x	39
Figura 9. Pruebas bioquímicas de las cepas 92 y 94.	40
Figura 10. Juego de antisueros para la identificación de serogrupo de <i>Salmonella</i> y aglutinación con antisueros específicos a <i>Salmonella</i> spp.....	41
Figura 11. Crecimiento e inhibición en antibiograma después de 24 horas, en el lado izquierdo se observa la cepa 92 y en el derecho la cepa 94	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Método de clasificación Kauffmann-White.	9
Tabla 2. Identificación serológica en el laboratorio clínico.	10
Tabla 3. Clasificación de antisueros específicos a <i>Salmonella</i> spp. y serogrupos.	11
Tabla 4. Diversidad de serotipos de <i>Salmonella</i> en México	15
Tabla 5. Características de <i>Salmonella</i> spp. en diferentes medios de cultivo.	17
Tabla 7. Resultados de antibiograma	43

RESUMEN

La enfermedad por *Salmonella* spp., es denominada salmonelosis y puede enfermar a humanos y animales; estas bacterias pueden ser expulsadas a través de materia fecal y son adquiridas por el contacto con esta misma o por ingestión de alimentos contaminados, se estima que aproximadamente el 9% de los casos en personas son atribuibles al contacto con animales, debido a la frecuencia de casos de infección por esta bacteria se le puede denominar un problema de salud pública y representa un mayor riesgo para personas inmunocomprometidas, los ancianos y niños. Con el objetivo de determinar la frecuencia de *Salmonella* spp. en heces de perros domésticos en Puebla; se recolectaron 100 muestras de heces caninas sin importar sexo, raza y edad del perro. Posteriormente se realizó la búsqueda de *Salmonella* por métodos microbiológicos convencionales, las cepas identificadas como *Salmonella* se les hizo identificación por aglutinación de antisueros y se realizaron pruebas de sensibilidad antimicrobiana.

Los resultados determinaron una frecuencia de *Salmonella* del 2% (2/100). Las dos cepas de *Salmonella* pertenecen al serogrupo B, una de ellas mostró alta sensibilidad a todos los antibióticos probados incluyendo cefalosporinas de 3ra, 4ta generación y carbapenémicos mientras que la segunda cepa de *Salmonella* presentó resistencia a cefepima.

INTRODUCCIÓN

Salmonella spp., es una bacteria gramnegativa que tiene forma bacilar, tiene una distribución mundial y puede sobrevivir por largos periodos cuando la temperatura y humedad son altas. La enfermedad por *Salmonella* spp., es denominada salmonelosis y puede enfermar a humanos y animales; siendo causante de morbilidad y mortalidad, se estima que aproximadamente el 9% de los casos en personas son atribuibles al contacto con animales. Es una de las principales bacterias que causan diarrea en el mundo; su conocimiento y vigilancia son fundamentales para la contención de la resistencia antimicrobiana que se expande rápidamente.

Se considera de gran interés hacer una investigación de frecuencia de *Salmonella* en perros ya que las mascotas, como lo es el perro, pueden albergar a *Salmonella* spp., de manera asintomática; a causa de esto hacer una estimación de la frecuencia en perros es difícil de establecer. Así mismo, el contacto de los perros con el humano es diario lo que podría desencadenar complicaciones en el estado de salud en sus dueños; tal es el caso que se describe en una sección de este documento de un niño que enfermaba frecuentemente de *Salmonella* y no encontraban la fuente de infección, tras varios estudios confirmaron que sus perros eran portadores asintomáticos, esto es una consecuencia de no llevar un adecuado tratamiento de salud y cuidado higiénico con su mascota.

En esta investigación se profundizará en las vías de transmisión de *Salmonella*, los factores de virulencias, mecanismos de patogenicidad y así comprender como es que puede causar un cuadro clínico grave. Sus antecedentes y contexto en México son ayudan a distinguir cómo ha evolucionado o en qué situación se encuentra México actualmente ante esta enfermedad, también se argumenta como un perro puede convertirse en huésped de este microorganismo y las formas de aislar a *Salmonella* en muestras caninas.

MARCO TEÓRICO

Salmonella.

Salmonella spp. son bacterias que tiene consecuencias sobre la salud humana y animal. Alfaro en 2018 la define como: “Un bacilo gramnegativo que se comporta como patógeno intracelular facultativo (anaerobio facultativo), está presente en el intestino de personas y animales sanos”. Aunque son bacterias intestinales, se encuentran distribuidas en el ambiente y en cualquier material con contaminación fecal (Alfaro, 2018). La salmonelosis puede afectar a los animales domésticos, de corral y silvestres, los cuales pueden ser diseminadores de la enfermedad a través de sus heces y gran parte de los portadores son asintomáticos (Maldonado, 2021). La mayoría de las personas que tienen mascotas en sus casas pueden contraer a la bacteria si no se tiene el cuidado adecuado con esos animales domésticos. Sin embargo, es una bacteria sensible a tratamientos térmicos, esto sirve como herramienta en el control y prevención de la salmonelosis. También los desinfectantes comunes como fenoles, iodados y clorados son eficaces contra las bacterias de este género (Maldonado, 2021).

Morfología y clasificación taxonómica de *Salmonella*.

El género *Salmonella* se encuentra dentro del orden Enterobacterales (Adeolu *et al*, 2016), son bacilos gramnegativos anaerobios facultativos, son fermentadores de glucosa, catalasa positiva, oxidasas negativas, además, la mayoría poseen flagelos; con excepción de algunas variantes inmóviles (López, 2018). Son bacterias no hemolíticas, lactosas negativas y tienen un metabolismo oxidativo y fermentativo. Su tamaño oscila de 0.3 a 1 μm x 1.0 a 6.0 μm . Su temperatura de reproducción no se ve alterada en rangos de temperatura entre los 7°C y los 49°C. En cuanto a sus características bioquímicas presenta reducción de nitratos a nitritos, utilizan citrato como única fuente de carbono, producen H₂S y son ureasa negativos (Núñez, 2015). Las pruebas bioquímicas son importantes para diferenciar a este género de otros. Según Cangui, el género *Salmonella* se divide en dos especies importantes *S. enterica* y *S. bongori*. A la vez *S. enterica* se divide en seis subespecies las cuales son: subsp. I *enterica*, subsp. II *salamae*, subsp. III *arizonae*, subsp. IIIb *diarizone*, subsp. IV *hautenae* y subsp. VI *indica* (Cangui *et al*, 2019). La subespecie de *Salmonella enterica* incluye a las bacterias de mayor interés para la salud como: *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* (A, B y C) y *Salmonella enterica* antes denominada *Salmonella enteritidis* o no tifoidea (Figura 1).

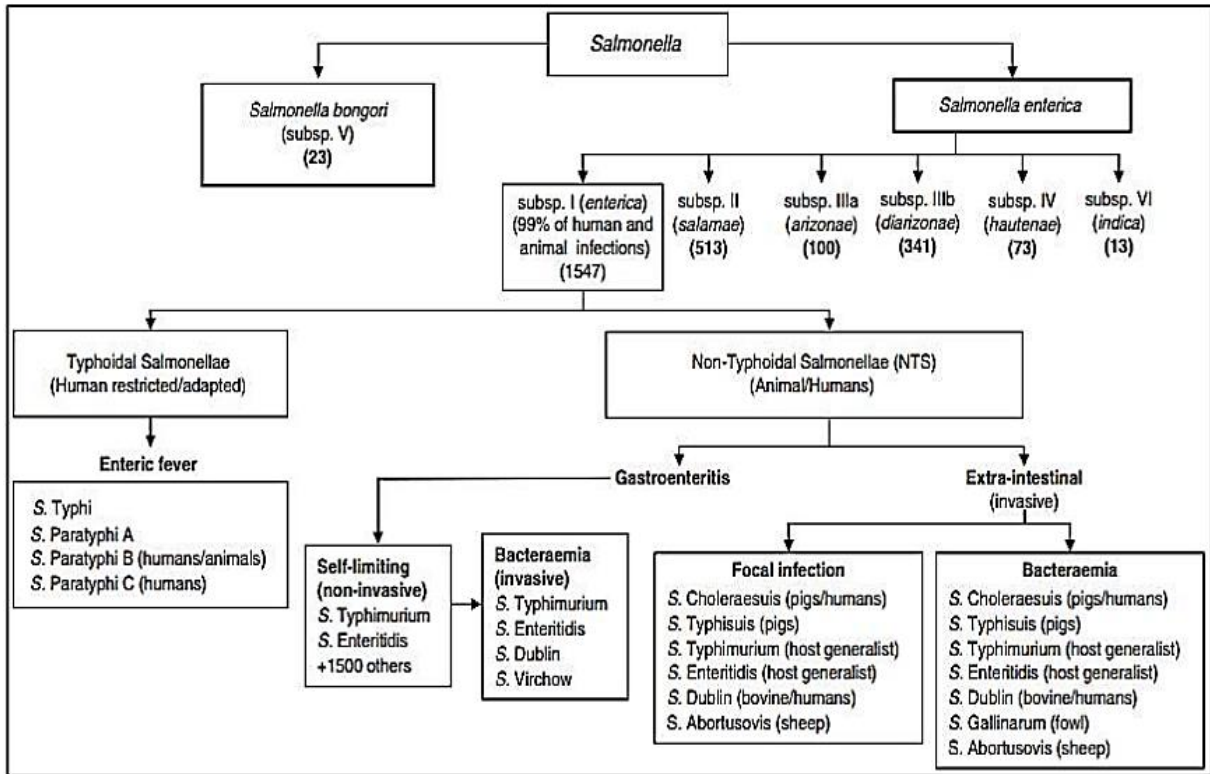


Figura 1. Esquema de clasificación taxonómica del género *Salmonella* spp. Tomado de Cangui et al, 2019.

Otro método de clasificación muy utilizado es el de Kauffmann-White, el cual clasifica dentro de 11 serogrupos a los diferentes serotipos de *Salmonella* spp. (Tabla 1), basados en un antígeno mayor y en uno o más antígenos somáticos menores (Romero, 2002).

Tabla 1. Método de clasificación Kauffmann-White.

SEROGRUPOS	EJEMPLOS DE SEROTIPOS
A	<i>S. Paratyphi A</i>
B	<i>S. Paratyphi B</i> <i>S. Typhimurium</i> <i>S. Heidelberg</i>
C1	<i>S. Choleraesuis</i> <i>S. Paratyphi C</i> <i>S. Oranienburg</i>
C2	<i>S. Newport</i> <i>S. Muechen</i>
C3	<i>S. Kentucky</i>

D1	<i>S. Typhi</i> <i>S. Enteritidis</i>
D2	<i>S. Maarseen</i>
E1	<i>S. Anatum</i>
E2	<i>S. Newington</i>
E3	<i>S. Illinois</i>
E4	<i>S. Senftenberg</i>

Tomada y modificada de Romero, 2002.

El sistema de clasificación actual se basa en técnicas de hibridación de ADN, donde se han identificado seis subgrupos (figura 1); no obstante, en su mayoría los subtipos pertenecientes al subgrupo I son los de importancia médica humana y veterinaria (Romero, 2002).

En la presente investigación la identificación serológica se llevar a cabo con base a la siguiente clasificación.

Tabla 2. Identificación serológica en el laboratorio clínico.

Serogrupo	Serotipo
A	<i>S. Paratyphi</i>
B	<i>S. Typhimurium, S. Paratyphi B, S. bredeney, S. derby, S. agona, S. heidelberg</i>
C1	<i>S. Cholerasuis, S. Montevideo, S. oranienienburg, S. Paratyphi C.</i>
C2	<i>S. Newport</i>
D	<i>S. Typhi, S. Enteritidis, S. gallinarum, S. dublin</i>
E	<i>S. anatum, S. butantan, S. give.</i>

Tomada y modificada de BIO RAD, 2007.

Estructura antigénica

El género *Salmonella* tiene tres tipos de antígenos: el antígeno somático (O), flagelar (H) y el capsular (K). El antígeno O se encuentra en la pared bacteriana, éste se caracteriza por ser termoestables y poseen complejos de fosfolípidos, polisacáridos y fracciones proteicas. Contrariamente los antígenos H son termolábiles y están constituidos por flagelina. Por último, el antígeno K es capsular el cual está compuesto por polisacáridos, al igual que el

antígeno O es termolábil y protege a la bacteria dándole resistencia antifagocítica. Su estructura antigénica es muy parecida a la de otras enterobacterias (Castiblanco *et al*, 2018). En el procedimiento de aglutinación con antisueros el análisis de resultados es con base a la siguiente clasificación de antígeno somático.

Tabla 3. Clasificación de antisueros específicos a *Salmonella* spp. y serogrupos.

Enterobacteria	Clasificación de antisueros	Clasificación en serogrupos
S-1	Antisuero polivalente de <i>Salmonella</i> de los grupos A hasta el I más VI	A [O:2] B [O:4,5]
S-2	Antisuero polivalente de <i>Salmonella</i> de los grupos A hasta el E más VI	C1 [O:6, 7] C2 [O:8]
S-3	Antisuero polivalente de <i>Salmonella</i> del grupo A (antígeno somático 2)	D [O:9] E [O:3,10,15,19 y 34]
S-4	Antisuero polivalente de <i>Salmonella</i> del grupo B (antígeno somático 4)	
S-5	Antisuero polivalente de <i>Salmonella</i> del grupo C1 (antígeno somático 7)	
S-6	Antisuero polivalente de <i>Salmonella</i> del grupo C2 (antígeno somático 8)	
S-7	Antisuero polivalente de <i>Salmonella</i> del grupo D (antígeno somático 9)	
S-8	Antisuero polivalente de <i>Salmonella</i> del grupo E (antígeno somático 3, 10, 15)	

Factores de virulencia

Su capacidad de adherencia a las células epiteliales del intestino es realizada por adhesinas esto es debido a su estructura y su poder de activación hacia neutrófilos y linfocitos B, favoreciendo la proliferación celular y secreción de citocinas. La familia de las enterobacterias puede presentar fimbria, fibrilla, flagelo, lipopolisacárido y cápsula. Este factor es de importancia para invadir las células hospedadoras y replicarse en su interior (Maldonado, 2021).

Salmonella es capaz de producir diferentes tipos de toxinas, éstas constituyen otro factor de virulencia, como las enterotoxinas las cuales se manifiestan pocas horas después de la adherencia de la bacteria con el enterocito (Ochoa *et al*, 2005). Las endotoxinas se encuentran en la membrana celular, por ello su actividad está ligada al lipopolisacárido (LPS). Esto ayuda a la respuesta inflamatoria local que daña el epitelio intestinal y ofrecen una resistencia a la bacteria frente a la acción del complemento al impedir que éste se una a la membrana externa de la bacteria. Por otro lado, las citotoxinas asociadas a la superficie de la célula inhiben la síntesis proteica de la célula hospedera lo que trae como resultado la muerte celular y su desprendimiento de la mucosa intestinal; se traduce en un flujo de iones y líquido hacia la luz intestinal que da origen a la diarrea. La producción de toxinas es mayor cuando la bacteria se encuentra en la fase estacionaria (Maldonado, 2021).

Mecanismo de patogenicidad

La patogenicidad está relacionada con los factores de virulencia presentes en el serotipo, el tamaño del inóculo y el estado inmunitario del hospedero. La vía de transmisión es fecal-oral y se da mediante el consumo de agua y alimentos contaminados donde la cantidad de esta bacteria debe ser mayor a 10^5 UFC/g de alimento para causar una intoxicación (Cangui *et al*, 2019).

Al ser ingerida, la bacteria se adhiere apicalmente a las células epiteliales del íleon y a las células M que, debido a la ausencia del borde de cepillo, así como de glicocálix representan una puerta de entrada ideal para las enterobacterias. *Salmonella* produce una alteración en citoesqueleto de las células epiteliales del íleon conocido como ruffling que se da como respuesta al contacto, esto le permite entrar al enterocito (Ochoa *et al*, 2005).

La infección puede llevarse a cabo dentro de células no fagocíticas y en ocasiones, en las vacuolas con bajo pH de los macrófagos ya que esta bacteria tiene un gen de tolerancia a los ácidos y éste les permite protegerse de los ácidos estomacales. También utiliza superóxido dismutasa que le da protección contra la destrucción intracelular (Ibarra *et al*, 2009). De acuerdo con Maldonado una vez que la infección llega a la lámina propia del intestino, se produce una reacción inflamatoria, seguida de una trombosis y finalmente ulceración de ésta. Lo que origina una secreción de fluido intestinal y por consecuencia un cuadro de diarrea. Por otro lado, en algunos casos, *Salmonella* puede invadir más allá del intestino llegando a

ganglios linfáticos mesentéricos y sangre, pudiendo alcanzar el resto de los órganos como bazo e hígado (Maldonado, 2021).

El perro como reservorio zoonótico de *Salmonella*.

En el transcurso de los años se han reportado brotes de *Salmonella* en personas a causa del contacto con mascotas y otros animales. Esto es importante debido al contacto diario que las personas tienen con sus mascotas, aunado a ello se encuentra el descuido en la higiene y alimentación que algunos propietarios pudieran tener sobre ellas (UNAM, 2022).

Según Cangui y colaboradores en el 2019, los perros denominados científicamente como *Canis lupus familiares* existen desde hace 25 millones de años y se derivan del lobo (*Canis lupus*). La relación que establecen los humanos con los perros ha demostrado tener efectos positivos en distintos ámbitos como son la salud psicológica, física y social. Debido a esto, la sociedad cada vez fija una relación familiar más estrecha con ellos, por esta razón es importante cuidar la salud de las mascotas (Cangui *et al*, 2019).

La población de perros puede crecer un 85% y la población humana un 23.5% en 10 años, por lo anterior, la sobrepoblación de perros callejeros hace más favorable esta zoonosis (Rincón *et al*, 2008). La incidencia real de *Salmonella* en perros no está clara, pero se sabe que una forma de transmisión es por ingestión de alimentos contaminados, así como por fómites, por ejemplo, juguetes como pelotas, platos antiestrés, etcétera.

De acuerdo con Ramsey y colaboradores en el año 2012 describen que *Salmonella* es una bacteria invasiva y puede llegar hasta los nódulos linfáticos mesentéricos. Si los nódulos linfáticos son incapaces de contener el microorganismo se desarrolla la septicemia y la infección puede instaurarse en otros tejidos (incluyendo placenta, conjuntiva, articulaciones y meninges). La septicemia puede producirse sin signos de gastroenteritis. Los animales portadores pueden mostrar síntomas gastrointestinales cuando estén sujetos a estrés o a enfermedad concurrente. Los animales viejos, cachorros y los enfermos tienen más probabilidad de afectarse (Ramsey *et al*, 2012).

De acuerdo con Drózdź y colaboradores en el 2021 aproximadamente 1300 millones de personas son afectadas por salmonelosis. Donde el mayor número de casos se relaciona con alimentos, pero también algunos animales son portadores asintomáticos. Hoy en día, una amplia gama de animales está presente en los hogares humanos como mascotas, incluyendo

reptiles, anfibios, perros, gatos, aves y roedores. Las mascotas contaminan el medio ambiente de sus dueños al arrojar la bacteria intermitentemente en sus heces. En consecuencia, se cree que causan salmonelosis a través de la transmisión de mascotas a humanos (Drózdź *et al*, 2021).

Esta infección tiene una distribución amplia en todo el mundo, pero *S. typhi* y *S. paratyphi* tienen mayor impacto en países en vías de desarrollo en contraste con las no tifoideas, y se relacionan a infecciones en personas. Por otro lado, *Salmonella enterica* se le atribuyen mayor número de hospedadores y se le conoce como fuente de infección a los alimentos o agua contaminados con materia fecal de animales y personas. Se ha observado una mayor incidencia en verano, en cuanto a los serotipos más aislados en los últimos años han sido Enteritidis y Typhimurium (Maldonado, 2021).

En diversas investigaciones se ha buscado la frecuencia de *Salmonella* en humanos, así como en distintas especies animales, también se han reportado las formas de trasmisión y detección, por ello a continuación se describen algunos de los resultados obtenidos en investigaciones anteriores (Drózdź *et al*, 2021).

En el 2008 Rincón y Figueroa realizaron una determinación de *Salmonella enteritidis* en una población canina, se obtuvieron 72 muestras sanguíneas provenientes de cinco zonas de la ciudad, y se tuvo como resultado una porcentaje del 41.7 % de *Salmonella enteritidis*, donde el mayor lo obtuvo la zona sur con 36.7%, seguida de la zona centro con un 26.6 % (Rincón *et al*, 2008).

En comunidades rurales de Guanajuato se realizó la detección de *Salmonella* spp., *Shigella* spp. y *Escherichia* spp. en muestras de origen humano y animales domésticos y de traspatio (ave, cerdo y perro). Se recolectaron 50 muestras de humano y se detectó la presencia de *Salmonella* spp., *Shigella* spp. y *Escherichia* spp., en todas las muestras recolectadas (González *et al*, 2013), esto se relaciona con un riesgo potencial para la salud pública.

Una investigación hecha en el 2019 por Cangui y colaboradores, en un parque de la ciudad de Quito en Ecuador se recolectaron 100 muestras de heces de cada animal, donde determinaron la presencia de *Salmonella* spp.; en heces caninas y palomas domésticas

encontraron que fue de 3% proveniente de heces caninas y 5% de palomas domésticas (Cangui *et al*, 2019).

Estos datos nos dan un panorama del impacto de *Salmonella* en la salud pública y que es un problema que podría disminuir llevando a cabo las medidas higiénicas recomendadas por las instituciones competentes.

Contexto de *Salmonella* en México

Las autoridades de salud en México han hecho un gran esfuerzo para fortalecer el Sistema Nacional de Supervisión Epidemiológica (SINAVE), que es responsable de recopilar información de eventos epidemiológicos, incluida la salmonelosis.

En este sentido, SINAVE reportó que en el período 1984 a 2017, el aumento de la fiebre tifoidea fue bastante grande de 7,629 a 45,280 casos; y para fiebre paratifoidea de 31,943 a 104,471 casos, respectivamente (Bedolla *et al*, 2022).

Contreras y colaboradores en 2019, realizaron una revisión de los serotipos de *Salmonella* spp. que afectan a la población mexicana entre los años 1968 - 2018 y destacaron los serotipos Enteritidis y Typhimurium (Tabla 2). Éstas fueron aisladas del ambiente, alimentos, el humano y animales, datos podrían indicar una oportunidad para reforzar los sistemas epidemiológicos en el estudio de *Salmonella* en México, es por ello, que en años recientes se promueve entre la comunidad científica la adopción de estrategias modernas que aborden las limitantes presentadas por los métodos convencionales y ofrezcan alternativas rápidas, confiables, sencillas o automatizadas, económicas y enfocadas a los demás serotipos de interés clínico de *Salmonella* (Contreras *et al*, 2019).

Tabla 4. Diversidad de serotipos de *Salmonella* en México

Serotipo	Origen de aislamiento						Total	%
	Animales	Humano	Medio ambiente	Alimentos de origen animal	Alimentos de origen vegetal			
Enteritidis	7	190	1	53	6	257	6.61	
Typhimurium	17	63	38	100	29	247	6.52	

Anatum	25	38	18	120	4	205	5.41
Agona	3	67	5	106	8	189	4.99
Meleagridis	1	41	0	118	0	160	4.22
Oranienburg	32	43	50	2	0	127	3.35
Derby	14	4	0	66	0	84	2.21
Infantis	4	35	7	36	0	82	2.16

Tomada y modificada de Contreras *et al*, 2019.

Aislamiento de *Salmonella* en muestras caninas

Salmonella spp., puede ser aislada de heces, la mucosa del colon, de nódulos linfáticos mesentéricos y de sangre (Ramsey *et al*, 2012). El aislamiento de *Salmonella* spp., a partir de otros órganos y sangre se considera una confirmación de septicemia. Según Maldonado, es importante tener en cuenta que la excreción de *Salmonella* en las heces no es constante, sino que se realiza de manera intermitente, sobre todo en fases subclínicas de la enfermedad. Por tanto, un resultado negativo no significa que el individuo no porte la bacteria. A fin de aumentar las posibilidades de un diagnóstico positivo, se recomienda en la medida de lo posible la recogida seriada de muestras fecales de al menos, 3 días consecutivos (Maldonado, 2021).

Tradicionalmente la identificación se hace mediante cultivo bacteriano y pruebas bioquímicas, pero actualmente existen pruebas serológicas y moleculares que tienen la ventaja de detectar mínimas cantidades de *Salmonella* spp., pero estas tecnologías son mucho más costosas (Marcelo *et al*, 2017).

Para el aislamiento y diferenciación de *Salmonella* spp., en materia fecal de perros de acuerdo con el Instructivo Técnico para la Detección de *Salmonella* spp., según la norma ISO 6579:2002 se divide en tres etapas: pre-enriquecimiento, enriquecimiento y medios selectivos en placa (Gobierno de Chile, s.f).

Pre-enriquecimiento no selectivo: Esta etapa es necesaria para facilitar el aislamiento porque muchas veces la bacteria ha estado expuesta a factores de estrés, lo que permite que cantidades muy bajas terminen multiplicándose. Se pueden emplear distintos medios como

el caldo lactosado, caldo nutritivo y agua peptonada tamponada, este último es el más utilizado (OMSA, 2018).

Enriquecimiento selectivo: Este segundo paso tiene como finalidad permitir el crecimiento selectivo de *Salmonella*, inhibiendo el crecimiento de otras especies por sus aditivos (Canguí *et al*, 2019), estos medios pueden ser los siguientes:

-Caldo selenito: Éste utiliza la peptona como fuente proteica, a lactosa como principal fuente de carbono y como inhibidor bacteriano ocupa al selenito; este inhibidor no es capaz de impedir el crecimiento de bacterias como *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp. y *Proteus* spp. (Laboratorio Britania, 2021).

-Caldo tetracionato: En este medio la peptona que provee los nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano utiliza carbonato de calcio para eliminar sustancias tóxicas también contiene sales biliares y tetracionato para inhibir el crecimiento de grampositivos y algunas enterobacterias. Pero *Salmonella* spp., cuenta con la enzima tetracionato reductasa por lo cual tiene un crecimiento favorable en este medio (Laboratorio Britania, 2021)

-Caldo Rappaport-Vassiliadis: La selectividad que tiene por *Salmonella* es debida a la capacidad de estos microorganismos de sobrevivir a elevadas concentraciones de cloruro de magnesio, y a pH bajos. Cuando se busca aislar *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* A este caldo no es recomendado (Laboratorio Britania, 2021).

Medios de cultivo selectivos y diferenciales: En esta etapa son utilizados medios selectivos sólidos que por su composición inhiban el crecimiento de bacterias distintas a *Salmonella* spp. y dan información acerca de algunas características bioquímicas diferenciales, algunos ejemplos de estos medios se encuentran en la tabla 3 en donde se muestra información acerca de la selectividad que tiene por *Salmonella* spp., así como el aspecto de las colonias.

Tabla 5. Características de *Salmonella* spp. en diferentes medios de cultivo.

Medio de cultivo	Selectividad	Aspecto de las colonias
Agar MacConkey	Baja	Incoloras
Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)	Baja	Incoloras

Agar <i>Salmonella Shigella</i> (SS)	Alta	Incoloras con centro negro
Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)	Alta	Rojas con centro negro
Agar Hektoen (HE)	Alta	Verdes-azuladas con centro negro
Agar Verde Brillante	Alta	Rosadas pálidas

Tomada y modificada de López, 2018.

Perfil bioquímico

Para confirmar el aislamiento final de *Salmonella* spp. o cuando las pruebas iniciales dan resultados no concluyentes, las colonias sospechosas obtenidas de los medios selectivos o diferenciales deberán someterse a las pruebas bioquímicas (Figura 2). Existe una gran variedad de pruebas bioquímicas pero las más utilizadas para la identificación de esta bacteria son las siguientes:

Triple azúcar hierro (TSI): En este medio las fuentes de carbono son glucosa, lactosa y sacarosa y a la producción de ácido sulfhídrico debido al tiosulfato de sodio. Cuando los azúcares son fermentados se produce un medio ácido; que es detectado por el indicador rojo de fenol el cual vira al color amarillo (Britania, 2012). La confirmación de *Salmonella* spp. se observa una reacción K/A con producción de ácido sulfhídrico.

Citrato de Simons (CS): El fosfato es utilizado como fuente de nitrógeno y como fuente de carbono el citrato de sodio; el metabolismo de este compuesto es realizado por la enzima citrato permeasa, al desdoblamiento del citrato se obtiene oxalacetato y piruvato. El piruvato en medio alcalino genera ácidos orgánicos que al ser utilizados como nutriente producen carbonatos y bicarbonatos alcalinos. Es por ello que el medio vira al color azul, indicando la producción de Citrato (Britania, 2021). Como ocurre en el caso de *Salmonella* spp.

Producción de indol: Uno de los productos de la degradación del triptófano es el indol. Cuando ocurre una hidrólisis y desaminación del triptófano por las bacterias producen indol, ácido pirúvico y amónico, dando origen a la formación de un complejo rojo. *Salmonella* spp. no tiene la capacidad de formar indol, es por esto por lo que no se observa coloración roja en el medio (Cangui *et al*, 2019).

Hidrólisis de urea: Las bacterias transforman urea liberando amoniaco al medio, esto debido a la enzima ureasa, al tener una concentración de amoniaco en el medio éste se alcaliniza dando como resultado un cambio de coloración debido al indicador de pH. Al no tener esta enzima *Salmonella* spp. es incapaz de hidrolizar la urea por lo que el medio no cambia de coloración. Gracias a esta prueba se puede diferenciar a *Salmonella* spp. y *Proteus* spp. (Maldonado, 2021).

Pruebas Bioquímicas		<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Shigella</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Proteus</i> spp.	
TSI	Fermenta	Glucosa	+	+	+	-	+	V	+
		Lactosa	+	V	+	-	-	-	-
		Sacarosa	+	V	+	-	-	-	-
	Gas	+	+	+	-	+	V	+	
	H ₂ S	-	-	-	-	+	-	+	
LIA	LDC (lisina descarboxilasa)	+	V	+	-	+	+	-	
	Gas	+	+	+	-	+	V	+	
	H ₂ S	-	-	-	-	+	-	+	
	Urea	-	-	+	-	-	V	+	
	Simmons Citrato	+	-	+	-	+	+	V	
	Fenilalanina desaminasa	-	-	-	-	-	-	+	
MIO	Movilidad	+	+	-	-	+	+	+	
	Indol	-	+	-	V	-	-	-	
	ODC (ornitina descarboxilasa)	+	V	-	-	+	+	+	

V: variable

Figura 2. Identificación de las cepas más frecuentes de Enterobacteriales. Tomada y modificada de Cangui *et al*, 2019.

Resistencia antimicrobiana de *Salmonella*.

Actualmente se ha registrado una creciente resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp., esta puede ser adquirida por el consumo indiscriminado de antibióticos, así como las personas y animales pueden adquirir a esta bacteria con resistencia antimicrobiana al consumir alimentos contaminados por heces de personas o animales portadores (Quesada *et al*, 2016). Un estudio realizado en Culiacán en 2009, informó que de 20 muestras analizadas; 20 resultaron sensibles a ciprofloxacina, trimetoprim-sulfametoxazol y ampicilia; pero un 60%

fue resistente a tetraciclina las cuales pertenecían al serotipo Typhimurum (López *et al*, 2009).

De acuerdo con una revisión de estudios epidemiológicos que realizaron Quesada y colaboradores en 2016 con apoyo de las bases de datos de PubMed y Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud (LILACS) entre 2003 y 2014, no se presentaron diferencias significativas en la resistencia de *Salmonella* a los antibióticos empleados (Figura 3) (Quesada *et al*, 2016).

Antibiótico	2003-2004**	2005-2006**	2007-2008**	2009-2010**	2011-2012**	2013-2014**
Aminoglucósidos						
Gentamicina	0/1	2/2	2/6	2/5	2/2	0/2
Estreptomina	0/1	2/2	3/4	4/5	2/2	4/4
Kanamicina	---	2/2	1/3	3/3	1/1	---
Quinolonas						
Ácido nalidixico	0/1	2/2	5/6	5/5	2/2	5/5
Ciprofloxacina	0/1	0/2	3/7	2/5	1/3	2/2
Fluoroquinolonas						
Enrofloxacin	---	1/1	2/2	1/2	2/2	1/1
Penicilinas						
Ampicilina	0/1	1/2	5/7	4/5	3/4	2/5
Tetraciclinas						
Tetraciclina	0/1	3/3	7/7	4/5	2/2	4/4
Fenicoles						
Cloranfenicol	0/1	1/2	5/7	3/6	3/3	2/3
Trimetoprim/Sulfametoxazol						
Trimetoprim/Sulfametoxazol	0/1	1/1	4/5	3/5	3/3	3/4
Sulfonamidas						
Sulfonamida	0/1	2/2	3/3	1/1	1/1	---
Nitrofuranos						
Nitrofurantoina	0/1	2/2	1/1	2/2	1/1	0/1
Cefalosporinas						
Cefalotina (1ª generación)	0/1	0/1	1/1	2/3	2/2	0/1
Ceftriaxona (3ª generación)	0/1	1/1	1/2	---	1/3	1/1
Cefotaxima (3ª generación)	---	---	0/2	0/3	---	1/2
Cefamias						
Cefoxitina	0/1	---	0/2	---	1/1	2/2

* En la tabla solo se listan los antibióticos analizados en más de seis estudios.

** Cantidad de estudios en los que los aislamientos fueron resistentes / cantidad de estudios en los que se analizó cada antibiótico

Figura 3. Resultados de la resistencia antimicrobiana de los aislamientos de *Salmonella* spp., de acuerdo con el tipo de antibiótico y país de realización del estudio. Tomada de Quesada *et al*, 2016.

Los datos mostrados en la figura 3 concuerdan con los reportados por la FDA en 2023, ésta nos informa que la resistencia antimicrobiana de *Salmonella* se mantiene constante desde

2017, ya que coincide con datos reportados en el periodo de 2006 a 2016, en el que del 76% al 85% de las salmonelas estudiadas fueron sensibles a los antimicrobianos probados, pero aún existe un peligro latente de una creciente resistencia para humanos y animales (FDA, 2023).

MARCO DE REFERENCIA

En esta sección se darán a conocer resultados obtenidos en distintas investigaciones internacionales y nacionales, que describirán un panorama que da sustento a esta investigación.

En el año 2000 en Nagano, Japón; Sato y colaboradores, dieron a conocer un caso en dónde un bebé fue llevado al hospital por presentar síntomas clínicos como diarrea acuosa abundante y debilidad leve al cual se le realizó un examen bacteriológico. Para realizar el estudio se obtuvo una muestra fecal, se cultivó durante la noche a 37°C en una placa de agar SS, una placa de agar sorbitol MacConkey y una placa de agar sangre, el resultado obtenido de acuerdo con los antígenos que poseía fue que se trataba de *Salmonella virchow*. El patógeno se aisló repetidamente del bebé durante un mes y a pesar de tres regímenes de tratamiento con antibióticos, a los que el aislamiento era sensible, durante todo este tiempo el bebe tuvo contacto con tres perros, al no poder encontrar el transmisor de esta infección decidieron hacerles pruebas a los perros. El patrón de sensibilidad a los antibióticos fue completamente similar a los aislamientos de los perros. Entonces los hallazgos indicaban que la infección en el bebé fue transmitida por los perros domésticos (Sato *et al*, 2000).

En otra investigación realizada en Medellín, Colombia, se determinó la presencia de *Salmonella* en caninos, para este estudio se tomaron muestras de materia fecal de 44 perros del Centro de Bienestar Animal, La Perla. Las pruebas realizadas fue un coprocultivo y la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) para detectar la bacteria. En los resultados obtenidos no se encontró la presencia de *Salmonella* en ninguna de las muestras. Estos investigadores atribuyen su resultado a un adecuado manejo sanitario del centro, por esto concluyen que La Perla no representa riesgo de salud pública para la transmisión de *Salmonella* spp., (Fonnegra *et al*, 2009).

Una investigación similar a la anterior se realizó en 2015 por Núñez en Mexicali, Baja California México, este análisis se llevó a cabo en el Centro Municipal de Control durante 2014 a 2015, las muestras utilizadas fueron hisopados de mucosa rectal. Se obtuvieron 385 muestras y 26 fueron presuntivas a *Salmonella* spp. Para establecer su metodología de trabajo se basaron en la ISO 6579:2002 y para confirmar las bacterias sospechosas fueron sometidas

a métodos de identificación API 20E y serotipificación, mostrando una discrepancia en la lectura para cada método. Los resultados encontrados en la población de estudio revelaron que la presencia de *Salmonella* spp. fue del 6.75% (Núñez, 2015).

Otro estudio tuvo como objetivo determinar la presencia de *Salmonella* spp., en las heces de perros de la región de Midlands en Reino Unido para evaluar el riesgo de exposición y el potencial de transmisión zoonótica. Las muestras recolectadas fueron en total 436, las muestras fecales se procesaron mediante un método basado en cultivos de enriquecimiento. Las heces de un perro dieron positivo a *Salmonella* spp. Esta investigación mostró que la presencia de *Salmonella* spp., en heces de perros aparentemente sanos de una variedad de condiciones de alojamiento fue baja, (Lowden *et al*, 2015).

En el artículo Potencial zoonótico y prevalencia de serotipos de *Salmonella* spp., aislados de mascotas realizado por Drózdź y colaboradores en el año 2021, se hace un resumen de los informes sobre *Salmonella* spp., de acuerdo con su prevalencia y distribución en animales de compañía (figura 4). El análisis bibliográfico se realiza con bases de datos de datos PubMed y Google Scholar, en sus resultados muestran la siguiente tabla donde se puede ver la prevalencia de *Salmonella* del 2015 al 2021 esto es en muestras biológicas, indicando su prevalencia en animales de compañía, con respecto a casos clínicos de salmonelosis humana, (Drózdź *et al*, 2021).

Salmonella prevalence [%]	Number of Salmonella-positive dogs	Country	Publication year	Number of tested dogs	Salmonella serovar/s or subspecies
0.23%	1	UK	2015	436	1 isolate: <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> (1/1, 100%)
1.85%	6	Spain	2020	325	3 <i>Salmonella enterica</i> serovars: Havana (3/325) <i>S. Mikawasima</i> (2/325) <i>S. monophasic Typhimurium</i> (1/325)
2.5%	60	US	2017	2422	24 <i>Salmonella enterica</i> serovars, 64 isolates the most predominant: <i>S. Newport</i> (13/64, 20.3%), <i>S. Enteritidis</i> (5/64, 7.8%), <i>S. Javiana</i> (5/64, 7.8%), <i>S. Infantis</i> (5/64, 7.8%), <i>S. Typhimurium</i> (4/64, 6.35%),
4.9%	27	US	2015	554b	10 <i>Salmonella enterica</i> serovars, 27 isolates the most predominant: <i>S. Newport</i> (6/27, 22%) <i>S. Javiana</i> (4/27, 15%) <i>S. Braenderup</i> (2/27, 7%) <i>S. Infantis</i> (2/27, 7%)
5.4%	22	Australia	2019	405	Not specified
5.6%	8	Grenada, West Indies	2018	144	6 <i>Salmonella enterica</i> serovars, 35 isolates <i>S. Arechavaleta</i> (13/35, 37.1%) <i>S. Montevideo</i> (5/35, 14.3%) <i>S. Javiana</i> (2/35, 5.7%) <i>S. Rubislaw</i> (5/35, 14.3%) <i>S. Braenderup</i> (5/35, 14.3%) <i>S. Kiambu</i> (5/35, 14.3%)
6.27%	24	Mexico	2019	385	24 <i>Salmonella</i> isolates <i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (21/24, 87.5%) <i>S. enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> (3/24, 12.5%)
9.47%	25	China	2020	243	8 <i>Salmonella enterica</i> serovars <i>S. Kentucky</i> (11/25, 44%), <i>S. Indiana</i> (5/25, 20%), <i>S. Typhimurium</i> (4/25, 16%) <i>S. Derby</i> (1/25, 4%) <i>S. Touca</i> (1/25, 4%) <i>S. San Diego</i> (1/25, 4%) <i>S. Newport</i> (1/25, 4%) <i>S. Saint Paul</i> (1/25, 4%)
11%	11	Iran	2018	100b	<i>S. enterica</i> ser. <i>Typhimurium</i> (7/11, 63.4%) <i>S. enterica</i> ser. <i>Enteritidis</i> 36.4%)
11.7%	42	Ethiopia	2017	360	14 <i>Salmonella enterica</i> serovars the most predominant: <i>S. Bronx</i> (7/42, 16.7%), <i>S. Newport</i> (6/42, 14.3%), <i>S. Typhimurium</i> (4/42, 9.5%), <i>S. Indiana</i> (4/42, 9.5%), <i>S. Kentucky</i> (4/42, 9.5%), <i>S. Saint Paul</i> (4/42, 9.5%) <i>S. Virchow</i> (4/42, 9.5%)
12.5%	5	Equador	2016	267	<i>S. enterica</i> ser. <i>Infantis</i> (5/267, 1.9%)
12.86%	18	Thailand	2020	140	13 <i>Salmonella enterica</i> serovars the most predominant: <i>S. Stanley</i> (3/18, 16.67%) <i>S. Hvitvingfoss</i> (3/18, 16.67%) <i>S. enterica</i> serotype I 1,4, [5],12:- (2/18, 11.20%)

aThese studies did not include the *Salmonella* subsp. differentiation into serovars

bFaecal samples were obtained from shelter dogs

Figura 4. *Salmonella*-prevalencia en perros en 2015-2021 (de menor a mayor prevalencia de *Salmonella* [%]). Tomada de Drózdź *et al*, 2021.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Salmonella es una bacteria que afecta la salud de humanos y animales provocando salmonelosis (OMS, 2018). La Organización Mundial de la Salud en 2018 informó que cada año invade 550 millones de personas, de las cuales 220 millones son niños menores de 5 años. *Salmonella* spp., es una de las cuatro causas principales de infecciones diarreicas a nivel mundial. Esto hace importante estudiar las causas o fuentes de transmisión de esta bacteria, ya que de esta manera se puede prevenir y bajar la frecuencia de ésta (OMS, 2018).

Según Fonnegra y colaboradores en el 2009 definen a la salmonelosis como una enfermedad zoonótica de amplia presentación mundial y que constituye un grave problema de salud pública. Los perros pueden hospedar 53 serotipos de *Salmonella* spp., incluyendo aquellas que son patógenas para los seres humanos. Se ha hecho una estimación sobre el factor de transmisión de *Salmonella* al ser humano donde entre el 55 % y el 95 % de los casos de salmonelosis se transmiten por los alimentos y aproximadamente el 9 % son atribuibles al contacto directo con animales (Lowden *et al*, 2015). Entre humanos y perros comparte los serotips *S. typhimurium* y *S. enteritidis*, estos serotipos se encuentran en animales sin causar algún cuadro clínico, es decir, en estado asintomático, sin embargo, producen gastroenteritis en humanos (Fonnegra *et al*, 2009). Una encuesta realizada por Statista Research Department en noviembre de 2020, un 84% de los participantes propietarios de mascotas reportaron tener uno o más perros, por lo que estudiar la frecuencia de *Salmonella* en perros cobra relevancia, ya que son los animales domésticos más comunes en México, y la irresponsabilidad de los dueños de las mascotas que implica la carencia de higiene de estas, la mala disposición de sus residuos fecales y el desconocimiento de las necesidades en cuanto a vacunación y alimentación hacen que estos animales puedan ser una fuente potencial para la transmisión de bacterias, particularmente *Salmonella* spp., (SRD, 2023).

Cruz Cortes reportó que en febrero del año 2022 en Puebla se registraron 290 pacientes con salmonelosis; en contraste a lo reportado un mes antes con 48 pacientes menos. Por lo que Puebla se sitúa entre las entidades con más casos nuevos de salmonelosis a nivel nacional (Cruz, 2022).

Por todo esto, se plantean la siguiente pregunta de investigación

¿Cuál es la frecuencia de *Salmonella* spp. en heces de perros domésticos de Puebla?

JUSTIFICACIÓN

En México se tienen pocas investigaciones de casos de *Salmonella* en perros y particularmente en el estado de Puebla no se han realizado estudios que informen la frecuencia de esta infección bacteriana en animales domésticos. Esta bacteria puede sobrevivir varias semanas en diferentes ambientes contaminados que pueden infectar a los perros; por su elevada población y algunas veces mala higiene de los propietarios pueden transmitir el agente patógeno al humano (Cangui *et al*, 2019), por ello es importante estudiar e informar a la comunidad la predisposición de la infección en los dueños de las mascotas y sus familias si la mascota está infectada.

Además, permitirá conocer el riesgo de la mala disposición de los excrementos de los animales pues se ha informado una alta tasa de infección bacteriana por contaminación fecal en alimentos de la calle. Por lo que nuestra investigación tiene una importante relevancia que permitirá informar a la población frente al cuidado e higiene de sus mascotas (Pérez, 2009). Por otro lado, pocos estudios en México informan resistencia a antibióticos de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de perros, por lo tanto, nuestra investigación analizará la resistencia antibacteriana de las cepas aisladas para orientar el diagnóstico y tratamiento de esta infección tanto en animales como en seres humanos ya que podríamos estar ante una bacteria resistente o multirresistente que podría propagarse rápidamente entre la población y volverse un problema potencial. Finalmente, se incentivará a extrapolar estos análisis a perros callejeros pues es un problema actual en México (Pérez, 2009).

OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar la frecuencia de *Salmonella* spp. en heces de perros domésticos en Puebla.

Objetivos específicos:

- Aislar e identificar a *Salmonella* spp. en heces de perros domésticos en Puebla.
- Identificar la edad, raza, alimentación y qué síntomas han presentado los perros reportados como positivos a *Salmonella* spp.
- Obtener la frecuencia de *Salmonella* spp. en heces de perros domésticos en Puebla.
- Evaluar la resistencia antimicrobiana de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de heces de perros domésticos en Puebla.

HIPÓTESIS

Hipótesis alternativa.

El análisis de las heces de perros domésticos en Puebla revela la presencia de *Salmonella* spp. en esta población canina.

La evaluación de la resistencia antimicrobiana de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de heces de perros domésticos en Puebla muestra cepas resistentes.

Hipótesis nula.

El análisis de las heces de perros domésticos en Puebla no reveló la presencia de *Salmonella* spp. en esta población canina.

La evaluación de la resistencia antimicrobiana de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de heces de perros domésticos en Puebla muestra cepas sensibles.

DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio

El tipo de estudio es transversal y observacional.

Universo del estudio

Perros domésticos de la región de Puebla.

Tamaño de la muestra

Para el cálculo de tamaño de muestra es requerida la fórmula que considera a la población infinita o desconocido (Aguilar, 2005), debido a que no existe una base de datos donde exista información del tamaño de la población de perros en Puebla. Se obtuvo utilizando la siguiente fórmula estadística:

$$n = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q}{e^2}$$

Donde:

- n = tamaño de muestra
- Z = Parámetro estadístico que depende el Nivel d confianza (constante 1,96 para el 95% de confiabilidad)
- e = Error de estimación máximo aceptado (10% = 0,1)
- p = probabilidad de que ocurra el evento estudiado (0,5)
- q = probabilidad de que no ocurra el evento estudiado (0,5)

Sustitución de fórmula:

$$n = \frac{1.96^2 \cdot 0.5 \cdot 0.5}{0.1^2} = 96 \text{ muestras de materia fecal.}$$

Sede y lugar de estudio

Laboratorio de Microbiología ubicado en Ciudad Universitaria en el edificio 9 de la Facultad de Ciencias químicas (FCQ 9), perteneciente a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Criterios de selección

-Criterios de inclusión

Muestras fecales frescas de perros.

Muestras fecales de perros que no estén en tratamiento con antimicrobianos.

Muestras fecales de perros de cualquier sexo, raza y edad.

-Criterios de exclusión

Muestras fecales de otras especies animales.

Muestras fecales de perros con tratamiento antimicrobiano

Recursos humanos

Nombre de tesista: Ángeles Mitzy Salem Hernández

Nombre de directores:

Claudy Lorena Villagrán Padilla

Alma López García

Recursos financieros

Corren por cuenta del tesista

Diseño estadístico

Para reportar los datos obtenidos se utilizará la estadística descriptiva.

MATERIALES Y MÉTODO

Materiales y equipos:

Balanza analítica y granataria	Vasos estériles para toma de muestra
Mechero	Abatelenguas
Cajas Petri	Tubos de ensaye
Agar SS	Agar LIA
Agar Mac Conkey	Agar TSI
Agar Urea	Agar MIO
Agar Citrato Simmons	Matraces Erlenmeyer
Vasos de precipitado	Caldo Selenito

-Toma de muestras

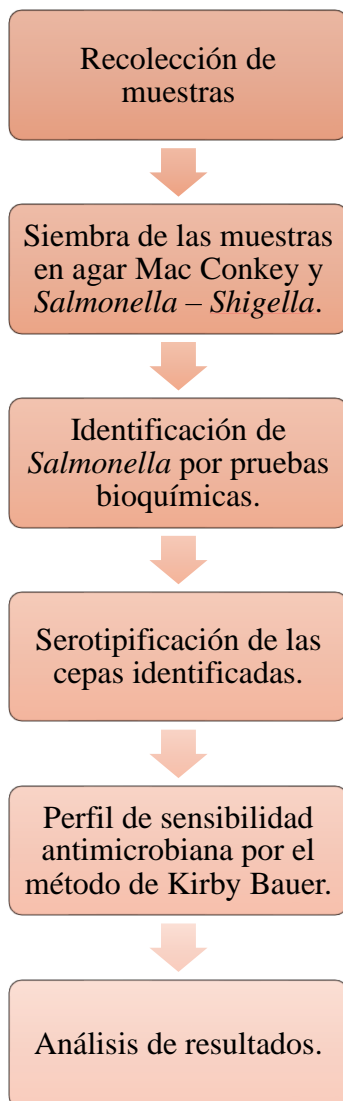
Recolectar en vasos estériles aproximadamente 1 g de heces de perros de Puebla.

-Transporte de las muestras

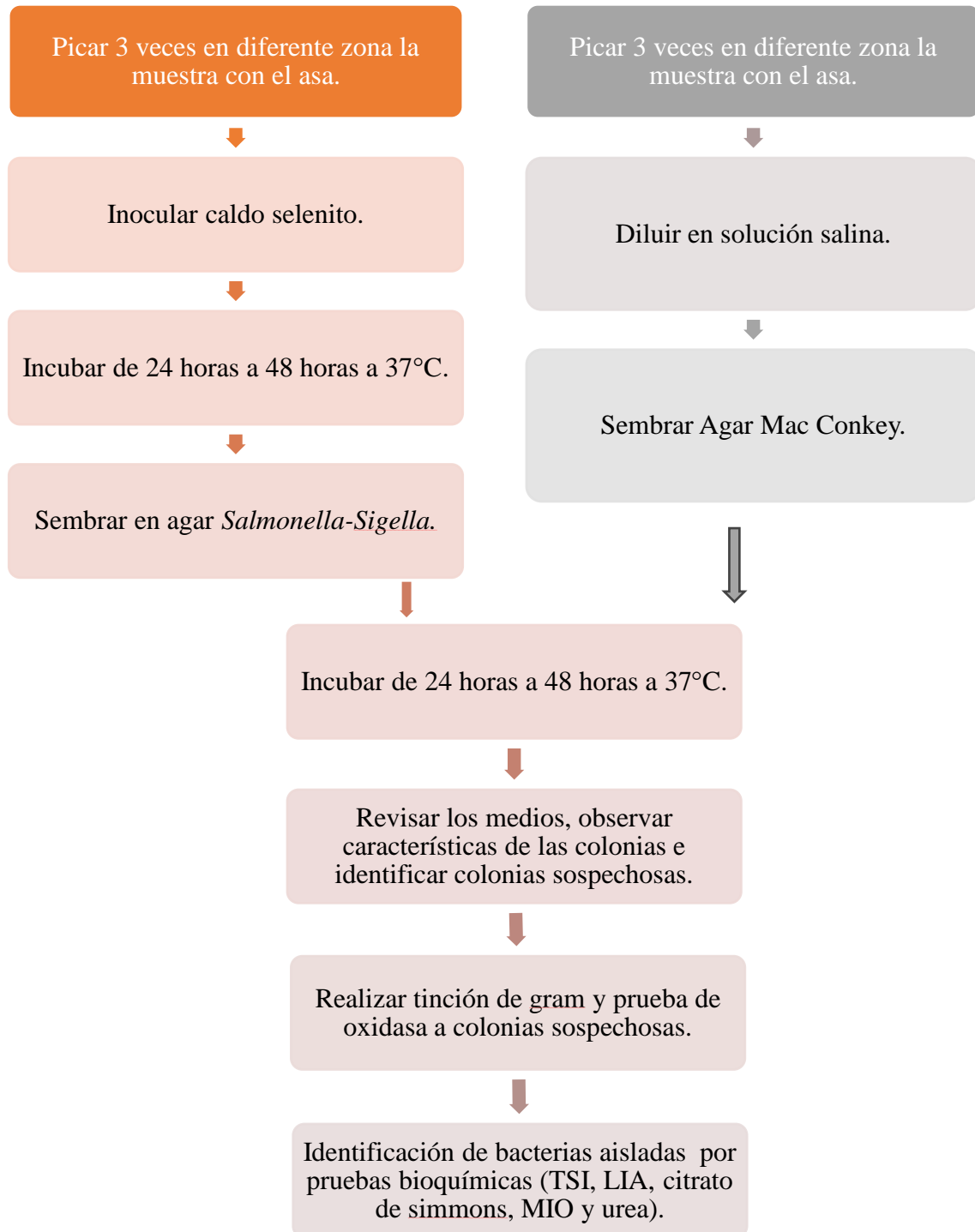
Transportar las muestras dentro de sus frascos al laboratorio, en un periodo menor o igual a 24 horas.

.

Esquema 1. Esquema general del trabajo



Esquema 2. Metodología de trabajo de muestra de heces



- Identificación de bacterias aisladas por pruebas bioquímicas

TSI: *Salmonella* spp. no fermenta lactosa, fermenta glucosa hay producción de H₂S, positiva a producción de gas.

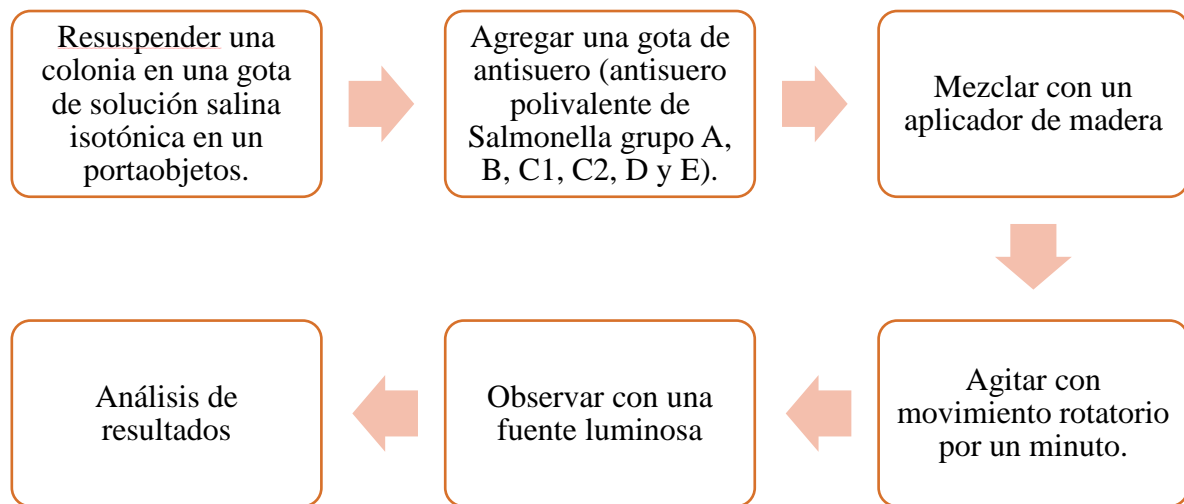
LIA: *Salmonella* spp. es lisina positiva, descarboxilación positiva y desaminación negativa, con producción de H₂S.

Citrato de Simmons: *Salmonella* spp. es positivo.

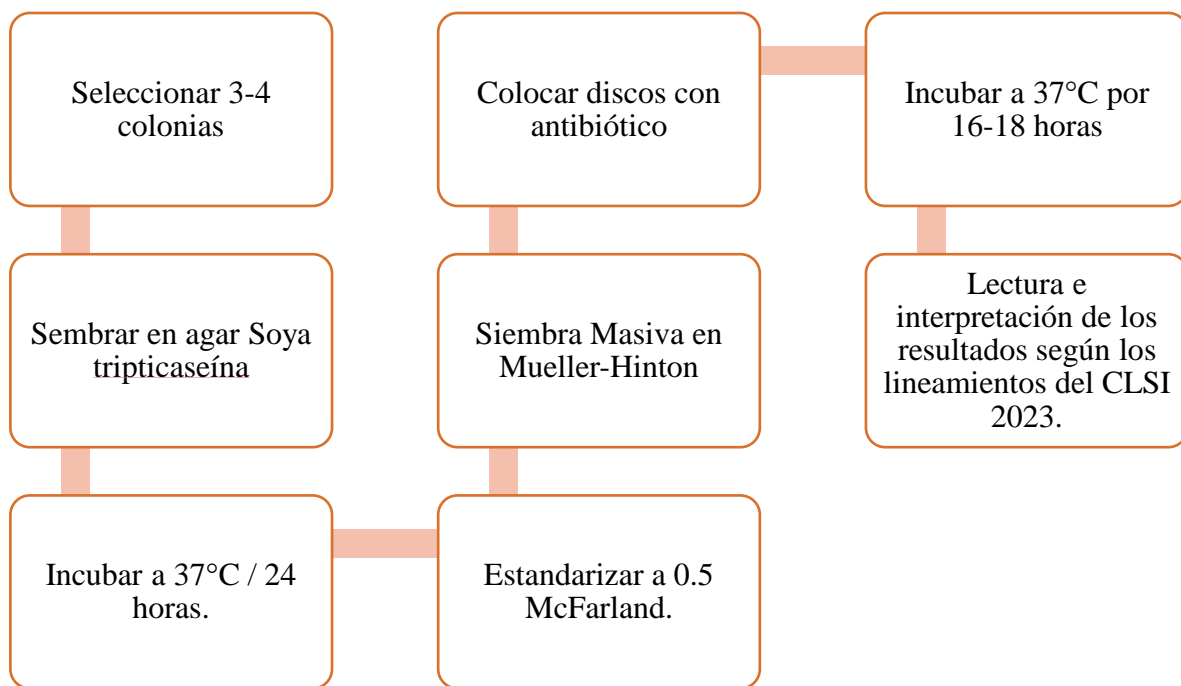
MIO: *Salmonella* spp. Tiene movilidad, es ornitina e indol negativos.

Urea: *Salmonella* spp. es negativa, esta bacteria no tiene la enzima ureasa.

Esquema 3. Metodología para la realización de aglutinación con antisueros específicos.



Esquema 4. Metodología para la realización de un antibiograma por el método de Kirby-Bauer. Utilizando *Escherichia coli* ATCC 25922 como control.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se hizo el análisis a 100 muestras, los perros fueron muestreados sin distinción de raza y edad, estos se pueden encontrar en el anexo 1. En la gráfica de pastel (figura 5), se puede observar que el mayor número de razas muestreadas lo obtuvieron los mestizos con un total de 27 mestizos. En la figura 7 se observa el rango de edades de estos perros así como su género, donde la edad de 2 a 3 años es la moda con un total de 36 perros dentro de este rango, por otra parte, el género predominante fue macho con un total de 56 perros.

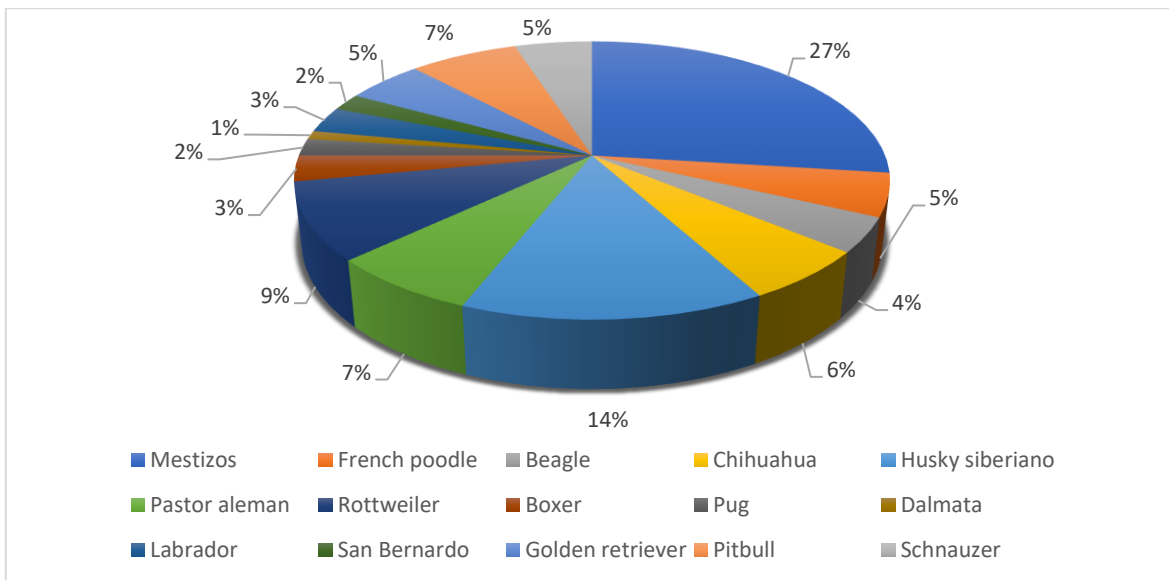


Figura 5. Porcentaje de razas de perros muestreados.

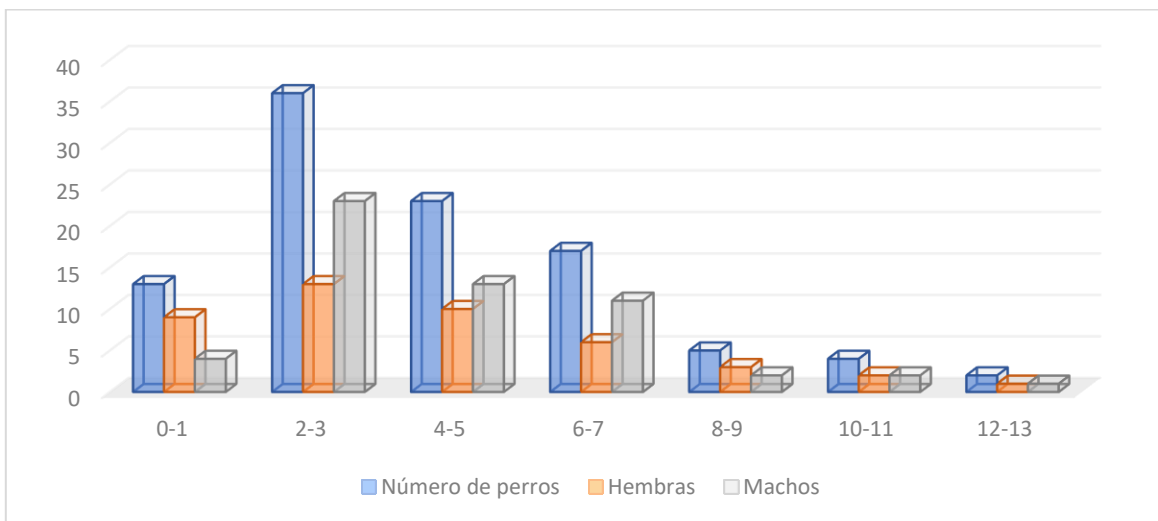


Figura 6. Representación del rango de edad y género de los perros muestreados

Las 100 muestras fueron sembradas en agar MacConkey y *Salmonella – Shigella* de las cuales se estudiaron las colonias lactosa negativa y productoras de ácido sulfhídrico (figura 7); resultando 50 colonias sospechosas a las 24 horas de incubación, a estas se les realizó tinción de Gram para observar bacilos gramnegativos (Figura 8), las cepas caracterizadas como bacilos gramnegativos se les realizó prueba de oxidasa, ya que *Salmonella* es negativa por ser una bacteria anaerobia facultativa. Mediante este procedimiento se descartaron 25 muestras de las 50 presuntivas; a las 25 cepas restantes se les realizaron pruebas bioquímicas, los resultados obtenidos fueron comparados con la figura 2 mostrada en el marco teórico a fin de encontrar coincidencia con *Salmonella* spp. revelando finalmente dos cepas sugestivas a *Salmonella* (figura 9).



Figura 7. Medio *Salmonella – Shiguella* con colonias productoras de ácido sulfhídrico y lactosa negativa, sospechosas de ser *Salmonella*, cepa 92 (izquierda) y cepa 94 (derecha).

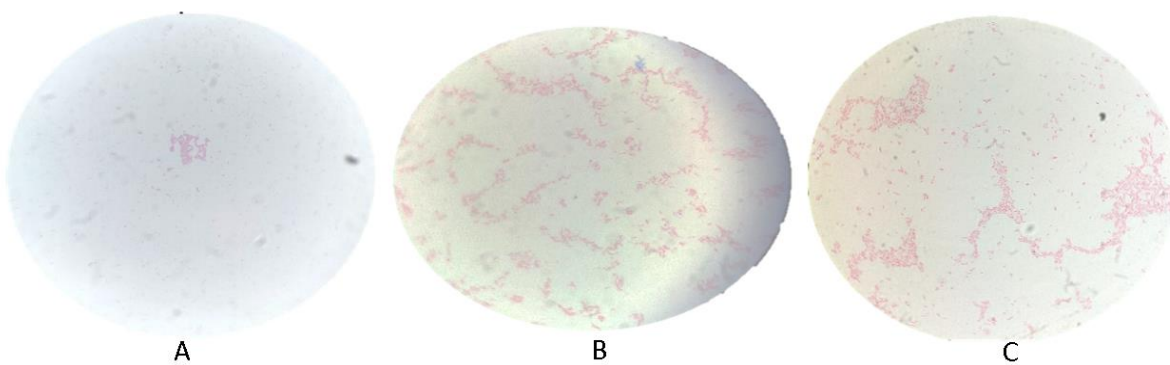


Figura 8. Fotografías de 3 diferentes colonias de las 50 observadas, donde se observan cocos gramnegativos (A), y bacilos gramnegativos (B y C). 100x



Figura 9. Pruebas bioquímicas de las cepas 92 y 94.

Las cepas positivas fueron aisladas de muestra fecal de dos perros de 1 y 9 años, donde el canino de 1 año presentaba diarrea y el canino de 9 años no presentaba ningún síntoma, pero ambos propietarios refieren alimentarlos con desperdicio de comida y desperdicio de pollo que adquieren en las pollerías; el desperdicio de pollo no lo pasan por un proceso de cocción; también indican tener a sus perros en el exterior de su casa y estos suelen convivir con perros callejeros (Anexo 2). Por ello, estos aspectos podrían considerarse clave para que un perro adquiriera *Salmonella* spp., ya que el 30% perros no diagnosticados con *Salmonella* spp., también son alimentados con desperdicio de pollo, pero este pasa por cocción y el 68% consume croquetas. Es importante tener los cuidados adecuados y darles una alimentación óptima a éstos ya que los perros pueden portar a la bacteria y ser asintomáticos por esto se consideran una fuente de contaminación para los humanos (Fonnegra *et al*, 2009).

Los aislamientos de *Salmonella* fueron confirmados mediante aglutinación con antisueros específicos a *Salmonella* las cuales resultaron pertenecer al serogrupo B (*S. Typhimurium*, *S. Paratyphi B*, *S. bredeney*, *S. derby*, *S. agona*, *S. heidelberg*) (Figura 10). Este serogrupo es de gran importancia porque forma parte de las principales causas de enfermedad diarreica a nivel global; según la Organización Mundial de la Salud (OMS), de acuerdo con Cuenca 2020 una de cada diez personas adquiere este agente patógeno por el consumo de agua o comida contaminadas y anualmente se reportan más de 550 millones de casos (Cuenca 2020). Se reconocen más de 2000 serotipos de *Salmonella enterica* y la mayoría son capaces de infectar una variedad de especies animales, incluidos los humanos (Kuk 2016).



Figura 10. Juego de antiseros para la identificación de serogrupo de *Salmonella* y aglutinación con antiseros específicos a *Salmonella* spp.

La frecuencia de *Salmonella* perteneciente al serogrupo B obtenida de muestra fecal de los perros fue del 2% (2/100) esta frecuencia fue baja como la obtenida en el trabajo realizado en el parque “La carolina” donde se buscó la presencia de *Salmonella* spp. en heces caninas y de paloma doméstica, se recolectaron 100 muestras de materia fecal canina y determinó un porcentaje del 3% para *Salmonella* spp., (Cangui *et al*, 2021). La frecuencia fue menor a la reportada en el trabajo de Amadi y colaboradores en 2018, en el cual se examinaron muestras fecales de 144 perros de los cuales el 5.6 % dieron positivo a *Salmonella* spp., (Amadi *et al*, 2018). Fonnegra nos dice que “La presencia de salmonelosis canina puede variar entre el 1% y el 18%” esto es comprobado en el presente trabajo al obtener una frecuencia del 2% (Fonnegra *et al*, 2009).

El porcentaje de aislamiento de *Salmonella* en este trabajo es semejante a otros trabajos a pesar de que los estudios han sido realizados en diferentes partes del mundo, el porcentaje ha ido en decremento esto es posible a que probablemente muchas personas alimentan a sus perros con productos elaborados bajo normas de inocuidad o bien con alimentos que llevan un proceso de cocción.

Por último, se realizó antibiograma a las dos cepas aisladas utilizando el método de Kirby-Bauer tomando como referencia las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute) [CLSI] (2023). Se utilizaron un total de 12 antibióticos de cinco familias diferentes (figura 11); aminoglucósidos (estreptomina y gentamicina); carbapenémicos (imipenem y meropenem); cefalosporinas (cefalotina, cefotaxima, cefuroxima, ceftriaxona y cefepima); penicilina (amoxicilina/ácido clavulánico) y dos quinolonas (levofloxacina y ciprofloxacina).

Los datos obtenidos permiten clasificar en susceptible, susceptible-dosis dependiente, intermedia y resistente a cada antibiótico probado, la cepa control *Escherichia coli* ATCC 25922 cayó dentro de los rangos permitidos (Tabla 6), (CLSI, 2023).

Tabla 6. Comparación de los datos obtenidos del antibiograma de la cepa control y los registrados en el CLSI.

Agente microbiano	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 CLSI 2023	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (Control)	Agente microbiano	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 CLSI 2023	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (Control)
Amikacina	19-26	23	Levofloxacin	29-37	32
Ampicilina	15-22	18	Norfloxacin	28-35	28
Cefotaxima	29-35	30	Sparfloxacin	30-38	30
Cefepima	31-37	31	Imipenem	26-32	30
Cefprozilo		24	Meropenem	28-35	30
Gepotidacina	18-26	20	Ceftriaxona	29-35	30
Netilmicina	22-33	24	Faropenem	20-26	28

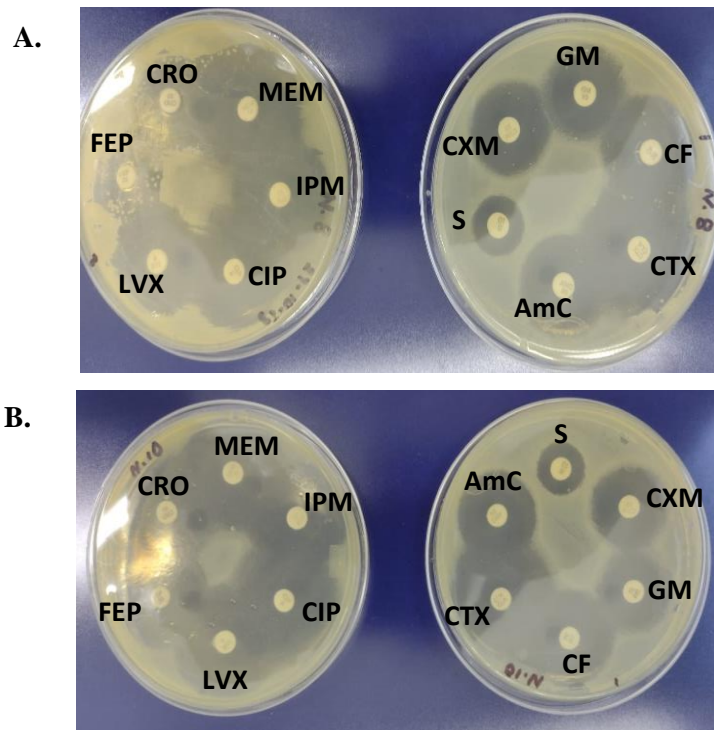


Figura 11. Crecimiento e inhibición en antibiograma después de 24 horas, (A) observa la cepa 92 (B) la cepa 94. Se usaron sensibilizadores de AmC (20/10 µg), CF (30 µg), FEP (30 µg), CTX (30 µg), CRO (30 µg), CXM (30 µg), CIP (5 µg), S (10 µg), GM (10 µg), IPM (10 µg), LVX (5 µg), MEM (10 µg).

Se utilizaron 5 familias diferentes de antibióticos, se puede observar que la cepa 94 fue sensible a todos los antibióticos, por el contrario, la cepa 92 presentó resistencia únicamente a la cefepima (Tabla 7).

Tabla 7. Resultados de antibiograma de cepas *Salmonella* serotipo B aisladas de heces caninas.

Antibiótico	Folio 92. <i>Salmonella</i> perteneciente al serogrupo B.	Folio 94. <i>Salmonella</i> perteneciente al serogrupo B.
	Interpretación	Interpretación
Amoxicilina/ Ácido clavulánico (AmC) / 20/10 µg	Sensible	Sensible
Cefalotina (CF) / 30 µg	Sensible	Sensible
Cefepima	Resistente	Sensible

(FEP) / 30 µg		
Cefotaxima (CTX) / 30 µg	Sensible	Sensible
Ceftriaxona (CRO) / 30 µg	Sensible	Sensible
Cefuroxima (CXM) / 30 µg	Sensible	Sensible
Ciprofloxacina (CIP) / 5 µg	Sensible	Sensible
Estreptomina (S) / 10 µg	Sensible	Sensible
Gentamicina (GM) / 10 µg	Sensible	Sensible
Imipenem (IPM) / 10 µg	Sensible	Sensible
Levofloxacina (LVX) / 5 µg	Sensible	Sensible
Meropenem (MEM) / 10 µg	Sensible	Sensible

Cefepima es una cefalosporina de cuarta generación, la cual está indicada para bacterias gramnegativas y tiene una mejor actividad frente a bacterias grampositivas que las cefalosporinas de tercera generación (AEP, 2020). En la última década el uso de cefalosporinas en la industria avícola ha aumentado y la creciente resistencia de *Salmonella* a este antibiótico va emergiendo como un grave problema de salud pública (Jeon, 2019), esto es de relevancia teniendo en cuenta que los perros pudieron infectarse a través de su alimentación; que proviene de un ave de corral.

Es sorprendente ver que la *Salmonella* perteneciente al serogrupo B, es resistente a una cefalosporina de cuarta generación, se esperaría ver este comportamiento en una de las pertenecientes a generaciones anteriores debido al tiempo de uso, puesto que las de tercera

generación han sido utilizadas por más tiempo (González *et al*, 2008). Sin embargo, al ser sensible a once de los doce antibióticos probados nos da un amplio número de opciones de antibióticos para un tratamiento terapéutico, ya que estos son eficaces en la inhibición de esta bacteria.

Por ello es importante incluir esta prueba en el diagnóstico, porque la detección oportuna de resistencia algún antibiótico permite elegir el antibiótico más adecuado; así evitar utilizarlos indiscriminadamente y prevenir el esparcimiento de esta resistencia que puede llegar a convertirse en un problema potencial (González *et al*, 2006). Sin embargo, es sugerente realizar una prueba fenotípica para la búsqueda de betalactamasas de espectro extendido.

CONCLUSIONES

Se logró aislar e identificar a *Salmonella* perteneciente al serogrupo B en heces de perros domésticos en Puebla con una frecuencia del 2% de la población muestreada.

Los perros positivos a *Salmonella* del serogrupo B fue un French poodle de un año y un perro mestizo de nueve años, se observó que esta bacteria puede estar presente de manera sintomática (diarrea en un perro positivo a *Salmonella*) o asintomática; por esto es importante tener un cuidado y alimentación adecuada en la mascota para prevenir riesgos a la salud humana y animal.

Una cepa de las cepas aisladas de *Salmonella* en heces de perros domésticos en Puebla presentó resistencia a cefepima. Esto es indicativo de la importancia de realizar antibiogramas ya que así se pueden evitar tratamientos ineficaces y diseminación de bacterias resistentes.

Este trabajo registra por primera vez la frecuencia de *Salmonella* en perros domésticos en el estado de Puebla y su resistencia antimicrobiana. Es importante tener conocimiento que estas mascotas podrían ser portadoras de esta bacteria; por ello se exhorta a los propietarios en general a tener un cuidado en la higiene con sus mascotas y darles una adecuada alimentación. Finalmente se incentiva a realizar investigaciones de este tipo en perros callejeros ya que constituyen un problema actual en México.

REFERENCIAS

Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S y S Gupta, R. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the '*Enterobacteriales*': proposal for *Enterobacterales* ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., *Hafniaceae* fam. nov., *Morganellaceae* fam. nov., and *Budviciaceae* fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 66(12), 5575-5599.

Aguilar, S., (2005). Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud en Tabasco*, 11(2), 333-338.

Alfaro, R. (2018). Aspectos relevantes sobre *Salmonella* sp en humanos. *Rev Cubana Med Gen Integr*, 34(3), 110-122.

Amadi, V. A., Hariharan, H, Arya, G., Matthew, V., Nicholas, R., Pinckney, R., Sharma, R. y Johnson, R. (2017). Serovars and antimicrobial resistance of non-typhoidal *Salmonella* isolated from non-diarrhoeic dogs in Grenada, West Indies. *Vet Med Sci*, 4(1), 26-34.

Asociación Española Pediatría [AEP]. (2020). Cefepima.

Bedolla, C., Lucio, R., Cruz, A., et al. (2022). Salmonelosis en humanos. *Rev Vet*.

BIO RAD. (2007). Antisueros para la tipificación serológica de bacterias del género *Salmonella* mediante aglutinación en placa.

Cangui, S. P. y Delgado, K. M. (2019). *Prevalencia de Salmonella spp. en heces caninas y de paloma doméstica en el Parque "La Carolina"* (Trabajo de investigación). Universidad Central Del Ecuador, Quito.

Cangui, S. P., Delgado, K., Terán, R., Echeverría, I., y Tapia, I. (2021). Aislamiento de *Salmonella* spp. en heces de fauna urbana en un parque recreativo de Quito. *Rev Quím Central*, 7(1), 26–35.

Castiblanco, A. y Hoyos, K. (2018). *Evaluación de susceptibilidad a antibioticos de la Salmonella spp., aislada de muestras de producciones avícolas que ingresaron al laboratorio servet* [Trabajo de grado]. Universidad De Ciencias Aplicadas y Ambientales UDCA, Bogotá.

Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]. (2023). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (33rd ed).

Contreras, M. B., Medrano, J. A., Ibarra, J. R., Martínez, J., Chaidez, Q. C., y Castro del Campo, N. (2019). Los últimos 50 años de *Salmonella* en México: Fuentes de aislamiento y factores que influyen en su prevalencia y diversidad. *Rev Bio Ciencias*, 6(spe): e540.

Cruz, D. (2022). Aumentan contagios de salmonelosis en la entidad de Puebla. *El sol de Puebla*.

Cuenca, P., Montaña L.A., Villarreal J.M., Wiesner M. (2020). Molecular and phenotypic characterization of *Salmonella* Typhimurium monophasic variant (1,4,[5],12:i:-) from Colombian clinical isolates. *Biomédica*, 40(4):722-733.

Drózd, M., Małaszczuk, M., Paluch, E. y Pawlak, A. (2021). Zoonotic potential and prevalence of *Salmonella* serovars isolated from pets. *Infect Ecol Epidemiol*, 11(1), 1-19.

Fonnegra, L.P., Londoño, L.M., y Hernández, C. (2009). Prevalencia de *Salmonella* spp. en perros del centro de bienestar animal " La Perla", en Medellín, Colombia. *CES MVZ*, 4(2), 66-71.

Food and Drug Administration [FDA]. (2023). Actualización del NARMS de 2018: Resumen del reporte integrado.

Gobierno de Chile. (s.f). Instructivo técnico para la detección de *Salmonella* spp. Según ISO 6579:2002(E).

González, E.B., Valenzuela, E.M., Mantilla, J.R., Leal, A.L., Saavedra, C.H., Eslava, J., y Sierra, P. (2006). Resistencia a cefepime en aislamientos de *Enterobacter cloacae* provenientes de hospitales de Bogotá, Colombia. *Rev Salud Pública*, 8(2), 191-199.

González, J., Vargas, M., Almanza, M., López, E. y Barrera, E. (2013). Detección de *Salmonella*, *Shigella* spp. y *Escherichia* en muestras de origen humano y animal.

González, M.C., Mendoza, A., Pavón, S., Becerril, R. y Vilchis, A. (2008). Resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación en enterobacterias productoras de infecciones nosocomiales y caracterización preliminar de los plásmidos involucrados. *CIENCIA ergo-sum*, 15(1),83-90.

Ibarra, J. y Steele, O. (2009). *Salmonella*-the ultimate insider. *Salmonella* virulence factors that modulate intracellular survival. *Cell Microbiol*, 11(11), 1579-86.

Jeon, H.Y., Kim, Y.B., Lim, S.K., Lee, Y.J. y Seo, K.W. (2019). Characteristics of cephalosporin-resistant *Salmonella* isolates from poultry in Korea, 2010–2017. *Poultry Science*, 98(2), 957-965.

Kunk, M.E. (2016). Caracterización metabólica y respuesta a estrés de cepas de *Salmonella enterica* aisladas de alimentos colectados en Michoacán. (Tesis de grado). Morelia Michoacán.

Laboratorio Britania. (2012). Triple Sugar Iron Agar.

Laboratorio Britania. (2021). Rappaport Vassiliadis Caldo.

Laboratorio Britania. (2021). Selenito Cistina Caldo.

Laboratorio Britania. (2021). Simmons Citrato Agar.

Laboratorio Britania. (2021). Tetracionato Caldo Base

- López, M. (2018). Aislamiento e identificación de *Salmonella* spp., de Babillas (*Caiman crocodilus fuscus*) en su hábitat natural (Represa hidroprado), Departamento Del Tolima (Tesis de grado). Universidad Del Tolima, Ibagué.
- López, O., León, J., Jiménez, M., y Chaidez, C. (2009). Detección y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Salmonella* en agua y suelo agrícola. *Rev Fitotec*, 32(2), 119-126.
- Lowden, P., Wallis, C., Gee N. et al. (2015). Investigating the prevalence of *Salmonella* in dogs within the Midlands region of the United Kingdom. *BMC Vet Res*, 11(1), 1-6.
- Maldonado, B. (2021). Detección y epidemiología de *Salmonella* spp. en aves silvestres en la Península Ibérica (Tesis doctoral). Universidad Complutense De Madrid, España.
- Marcelo, M., Rosadio, A., Chero, O., Díaz, O., Ciprian, C., y Maturrano, H. (2017). Identificación de *Salmonella Enteritidis* y *Salmonella Typhimurium* en cuyes mediante la técnica de PCR múltiple. *Rev Investig Vet Perú*, 28(2), 411-417.
- Núñez, K. M. (2015). Aislamiento e identificación de *Salmonella* spp en perros del Centro Municipal de control animal en Mexicali Baja California, México (Tesis de grado). Universidad Autónoma de Baja California, México.
- Ochoa, I. M. F., y Rodríguez, A. V. (2005). Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* spp. *Rev Latinoam Microbiol*, 47(2), 25-42.
- Organización Mundial de Sanidad Animal [OMSA]. (2018). Manual Terrestre de la IOE.
- Pérez, M. (2009). La sobrepoblación de perros no domiciliados: un problema social vinculado con la difícil tarea de educar. *Temas de ciencia y tecnología*.
- Quesada, A., Reginatto, G. A., Ruiz Español, A., Colantonio, L.D., y Burrone, M.S. (2016). Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 33(1), 32-44.
- Ramsey, I. K. y Tennant, B. J. (2012). Manual de enfermedades infecciosas en pequeños animales. Ediciones S.
- Rincón, O. y Figueroa, J. (2008). Prevalencia serológica de *Salmonella enteritidis* en la Población Canina del Municipio de Tunja, Colombia. *Rev Salud Pública*, 10(3), 470-476.
- Romero, C.R. y Herrera, B.I.F. (2002). Síndrome Diarreico infeccioso. Ed. Médica Panamericana. 118-119
- Rosero, M. (2020). *Monitoreo microbiológico del aire, superficies y personal del Hospital del Día de la Universidad Central del Ecuador* (Trabajo de grado). Universidad Central Del Ecuador, Quito.
- Sato, Y., Mori, T., Koyama, T., y Nagase, H. (2000). *Salmonella Virchow* infection in an infant transmitted by household dogs. *J Vet Med Sci*, 62(7): 767-769.
- Statista Research Department (SRD). (2023). Distribución porcentual de hogares con mascotas en México en 2020, por tipo de mascota.

Universidad Autónoma de México [UNAM]. (2022). Prevalece falta de responsabilidad en el cuidado de los perros. Boletín UNAM.

ANEXOS

Anexo 1. Tabla de resultados de microscopia y prueba de oxidasa

FOLIO	EDAD	Sexo	Raza	Muestra	Síntomas	Alimentación	Lugar donde vive el perro	Clase social	Crecimiento en Mac Conkey	<i>Salmonella-Siguella</i>
1	2 años	Hembra	Rottweiler	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa -	Lactosa -
2	3 años	Macho	Pastor alemán	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	No hubo crecimiento	Lactosa - / H ₂ S
3	3 años	Macho	Chihuahua	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa +
4	12 años	Macho	Rottweiler	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	lactosa +	Lactosa +
5	2 años	Macho	French poodle	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	No hubo crecimiento	Lactosa +
6	3 años	Hembra	French poodle	Fecal	Ninguno	Croquetas	Azotea	Alta	Lactosa +	Lactosa +
7	10 años	Macho	Beagle	Fecal	Ninguno	Croquetas	Patio de concreto	Alta	No hubo crecimiento	Lactosa + / Lactosa -
8	5 años	Hembra	Pitbull	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Patio de concreto	Media	Lactosa +	Lactosa -
9	2 años	Macho	Pastor alemán	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Patio de concreto	Media	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa -
10	2 años	Macho	Husky siberiano	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa - / H ₂ S
11	5 años	Hembra	Chihuahua	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	Lactosa +	Lactosa +
12	3 años	Macho	Husky siberiano	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa -
13	2 años	Hembra	Pitbull	Hisopado	Ninguno	Pollo hervido	Dentro de casa	Media	Lactosa -	Lactosa - / H ₂ S
14	7 años	Hembra	Chihuahua	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	Lactosa +	Lactosa - / H ₂ S

15	3 años	Macho	Husky siberiano	Hisopado	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +/ Lactosa -	Lactosa -
16	2 años	Hembra	French poodle	Hisopado	Ninguno	Pollo hervido	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa +
17	3 años	Macho	Husky siberiano	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa - / H2S
18	2 años	Hembra	Golden retriever	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	lactosa +
19	4 años	Macho	Beagle	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	No hubo crecimiento	no hubo crecimiento
20	2 años	Macho	Mestizo	Fecal	Diarrea	Croquetas	Patio de concreto	Media	Lactosa +	lactosa -
21	4 años	Macho	Husky siberiano	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	lactosa -
22	5 años	Macho	Rottweiler	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Dentro de casa	Media	No hubo crecimiento	no hubo crecimiento
23	3 años	Hembra	Golden retriever	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	Lactosa +	Lactosa + / Lactosa -
24	4 meses	Macho	Husky siberiano	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	No hubo crecimiento	Lactosa - / H2S
25	5 años	Macho	Pitbull	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Patio de concreto	Alta	Lactosa -	Lactosa - / H2S
26	1 año	Hembra	Pastor alemán	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	patio de tierra	Media	Lactosa -	lactosa -
27	3 años	Macho	Pitbull	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	patio de tierra	Media	Lactosa -	Lactosa - / H2S
28	2 años	Macho	Beagle	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Dentro de casa	Media	Lactosa -	lactosa -
29	6 años	Macho	Husky siberiano	Fecal	Diarrea	Croquetas	Dentro de casa	Media	No hubo crecimiento	no hubo crecimiento
30	11 meses	Macho	Chihuahua	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	lactosa +
31	7 años	Macho	Rottweiler	Fecal	Ninguno	Croquetas	Azotea	Media	Lactosa +	Lactosa - / H2S

32	4 años	Macho	Pastor alemán	Fecal	Ninguno	Croquetas	Azotea	Media	No hubo crecimiento	Lactosa - / Lactosa +
33	5 años	Macho	Husky siberiano	Fecal	Ninguno	Croquetas	Patio de concreto	Media	Lactosa +	Lactosa - / Lactosa +
34	6 años	Hembra	Labrador	Fecal	Ninguno	Croquetas	Patio de concreto	Alta	Lactosa +	Lactosa +
35	11 años	Hembra	French poodle	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa +
36	2 años	Macho	Golden retriever	fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	Lactosa +	Lactosa + / Lactosa -
37	3 años	Macho	Mestizo	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	patio de tierra	Baja	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa - / H2S
38	2 años	Hembra	Pitbull	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	patio de tierra	Media	Lactosa +	Lactosa +
39	1 año	Hembra	Pitbull	Fecal	Diarrea	Pollo hervido	Patio de tierra	Baja	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa -
40	2 años	Hembra	Mestizo	Fecal	Diarrea	Pollo hervido	Patio de tierra	Baja	Lactosa +	Lactosa - / H2S
41	7 meses	Hembra	Rottweiler	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Patio de concreto	Media	No hubo crecimiento	No hubo crecimiento
42	3 años	Macho	Mestizo	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Patio de tierra	Baja	Lactosa +	Lactosa - / H2S
43	6 años	Hembra	Mestizo	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Patio de tierra	Baja	Lactosa +	Lactosa - / H2S
44	8 meses	Hembra	Pug	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa - / H2S
45	4 años	Hembra	Mestizo	Fecal	Diarrea	Croquetas	Patio de concreto	Media	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa +
46	8 años	Macho	Husky siberiano	Fecal	Ninguno	Croquetas	Patio de concreto	Media	Lactosa +	Lactosa - / H2S
47	7 años	Macho	Dálmata	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	Lactosa +	Lactosa - / H2S
48	4 años	Macho	Rottweiler	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	Lactosa +	Lactosa - / Lactosa +
49	7 años	Macho	Pastor alemán	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	Lactosa +	Lactosa +

50	7 años	Macho	Mestizo	Fecal	Ninguno	Croquetas	Patio de concreto	Media	Lactosa +	Lactosa +
51	10 años	Hembra	Mestizo	Fecal	Ninguno	Croquetas	Patio de concreto	Media	Lactosa +	Lactosa +
52	5 años	Macho	Beagle	Fecal	Ninguno	Croquetas	Azotea	Media	Lactosa +	Lactosa +
53	4 años	Hembra	Rottweiler	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa - / H2S
54	7 años	Hembra	Mestizo	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa +
55	7 años	Macho	Pitbull	Fecal	Diarrea	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa + / Lactosa -, H2S
56	1 año	Hembra	Mestizo	Fecal	Ninguno	Croquetas	Azotea	Media	Lactosa +	Lactosa +
57	2 años	Macho	Husky siberiano	Fecal	Diarrea	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa +
58	3 años	Hembra	Pug	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa - / H2S
59	6 años	Macho	Rottweiler	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa +
60	6 años	Macho	Mestizo	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Patio de concreto	Media	Lactosa +	Lactosa + / Lactosa -, H2S
61	12 años	Hembra	Husky siberiano	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa +
62	3 años	Macho	Mestizo	Fecal	Diarrea	Croquetas	Patio de concreto	Media	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa + / Lactosa -, H2S
63	1 año	Hembra	Schnauzer	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa +
64	10 años	Macho	Rottweiler	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa +
65	2 años	Hembra	Pastor alemán	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa +
66	3 años	Macho	Mestizo	fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Baja	Lactosa +	Lactosa +
67	3 años	Macho	Schnauzer	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa - / H2S
68	5 años	Macho	Chihuahua	Fecal	Diarrea	Croquetas	Dentro de casa	Baja	Lactosa +	Lactosa - / H2S
69	2 años	Macho	Mestizo	Fecal	Diarrea	Pollo hervido	Azotea	Baja	Lactosa +	Lactosa - / H2S

70	5 años	Macho	Husky siberiano	Fecal	Diarrea	Pollo hervido	Azotea	Media	Lactosa +	Lactosa -
71	5 años	Macho	Mestizo	fecal	Ninguno	Pollo hervido	Dentro de casa	Media	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa - / H2S
72	4 años	Hembra	Rottweiler	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Dentro de casa	Media	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa - / H2S
73	5 años	Macho	Mestizo	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Patio de concreto	Baja	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa + / Lactosa -
74	2 años	Macho	Mestizo	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Patio de tierra	Baja	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa - / H2S
75	7 años	Macho	Mestizo	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Patio de tierra	Baja	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa - / H2S
76	5 años	Hembra	Schnauzer	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa - / H2S
77	1 año	Hembra	Labrador	Fecal	Ninguno	Croquetas	Patio de concreto	Alta	Lactosa +	Lactosa + / Lactosa -
78	5 años	Hembra	Mestizo	Fecal	Diarrea	Pollo hervido	Patio de concreto	Media	Lactosa +	Lactosa - / H2S
79	5 años	Hembra	Schnauzer	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa + / Lactosa -
80	3 años	Hembra	Mestizo	Fecal	Ninguno	Croquetas	Patio de concreto	Media	Lactosa + / Lactosa -	Lactosa - / H2S
81	7 años	Hembra	Husky siberiano	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa + / Lactosa -
82	3 años	Macho	Mestizo	Fecal	Ninguno	Croquetas	Patio de concreto	Baja	Lactosa +	Lactosa +
83	2 años	Hembra	San Bernardo	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa + / Lactosa -
84	9 años	Macho	Husky siberiano	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa +
85	5 años	Hembra	Golden retriever	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa +

86	8 años	Hembra	Chihuahua	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa +, H2S
87	8 años	Hembra	Mestizo	Fecal	Ninguno	Croquetas	Patio de concreto	Media	Lactosa +	Lactosa -, H2S
88	3 años	Macho	Rottweiler	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa -, Lactosa +
89	2 años	Hembra	Mestizo	Fecal	Diarrea	Pollo hervido	Patio de concreto	Media	Lactosa +	Lactosa -, H2S
90	1 año	Hembra	Mestizo	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	patio de tierra	Baja	Lactosa +	Lactosa +
91	6 años	Macho	Mestizo	Fecal	Ninguno	Pollo hervido	Patio de concreto	Media	Lactosa +/ Lactosa -	Lactosa +
92	1 años	Macho	French poodle	Fecal	Diarrea	Pollo crudo	Patio de tierra	Media	Lactosa -	Lactosa -, H2S
93	4 años	Macho	Mestizo	Fecal	Diarrea	Pollo hervido	Patio de concreto	Media	Lactosa +	Lactosa +
94	9 años	Hembra	Mestizo	Fecal	Ninguno	Pollo crudo	Patio de tierra	Media	Lactosa -	Lactosa -, H2S
95	3 años	Macho	Golden retriever	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	Lactosa +	Lactosa -
96	5 años	Hembra	Labrador	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	Lactosa +	Lactosa +
97	2 años	Macho	Rottweiler	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa -	Lactosa +
98	6 años	Hembra	Pastor aleman	Fecal	Diarrea	Croquetas	Patio de concreto	Media	Lactosa +	Lactosa +
99	4 años	Macho	Schnauzer	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Media	Lactosa +	Lactosa -, H2S
100	2 años	Macho	San Bernardo	Fecal	Ninguno	Croquetas	Dentro de casa	Alta	Lactosa +	Lactosa -, H2S

Anexo 2. Expedientes de los pacientes con folio 92 y 94 positivos a *Salmonella* spp.

<h3>Datos del canino</h3> <p>FOLIO: 92</p> <p>Nombre del perro / Edad / Sexo / Raza Rex / 1 año / Macho / French Poodle</p> <hr/> <p>Nombre del propietario / Clase social Familia Romero / Media</p> <hr/> <p>Lugar donde vive el perro Patio de tierra</p> <hr/> <p>Sintomatología presentada / Enfermedad Diarrea</p> <hr/> <p>Alimentación del perro Desperdicio de comida y pollo crudo</p> <hr/> <p>Características macroscópicas de la muestra Color marrón , sin moco, sin sangre, pastoso</p> <hr/>	<h3>Datos del canino</h3> <p>FOLIO: 94</p> <p>Nombre del perro / Edad / Sexo / Raza Lola / 9 años / Hembra / Mestizo</p> <hr/> <p>Nombre del propietario / Clase social Familia Romero / Media</p> <hr/> <p>Lugar donde vive el perro Patio de tierra</p> <hr/> <p>Sintomatología presentada / Enfermedad Ninguno</p> <hr/> <p>Alimentación del perro Desperdicio de comida y pollo crudo</p> <hr/> <p>Características macroscópicas de la muestra Color marrón , sin moco, sin sangre, pastoso</p> <hr/>
--	---

Anexo 3. Resultado de las 25 bioquímicas realizadas a cepas presuntivas de ser *Salmonella*.

FOLIO	TSI	H2S	GAS	LIA	H2S	GAS	MIO			CITRATO	UREA	<i>Salmonella</i>
							MOVILIDAD	INDOL	ORNITINA			
2	K/Sc	+	+	k/A	+	+	-	-	+	-	+	-
24	k/Sc	+	+	k/k	-	+	+	-	-	+	-	-
25	k/Sc	+	-	K/K	-	+	+	-	-	+	+	-
27	K/K	+	+	K/K	+	+	+	-	-	+	-	-
28	K/A	-	+	k/K	-	+	+	+	+	+	-	-
31	A/A	-	-	k/A	-	+	-	-	-	+	-	-
40	K/A	+	-	K/K	-	-	-	-	+	-	+	-
42	A/A	-	-	K/A	-	-	-	+	-	+	-	-
43	A/A	-	-	K/K	+	-	-	-	-	+	-	-
44	A/A	+	-	K/K	+	-	-	-	+	+	-	-
53	K/K	+	+	K/A	-	+	-	+	+	+	+	-
55	A/A	-	+	K/A	+	+	-	-	-	+	-	-
60	K/K	+	+	K/K	+	+	+	-	+	-	+	-
62	A/A	-	+	K/A	+	+	-	-	+	+	+	-
67	K/K	+	+	K/A	-	-	+	-	-	+	+	-
68	K/K	+	-	K/A	-	-	-	-	+	+	+	-
71	K/K	+	+	K/A	-	+	-	-	-	+	+	-
72	K/K	+	+	K/A	-	+	+	+	-	+	+	-
76	A/A	+	+	K/K	-	-	+	+	+	+	+	-
80	A/A	+	+	K/A	+	+	-	+	-	+	+	-
87	A/A	+	+	K/A	+	+	-	-	-	+	-	-
92	K/A	+	+	K/K	+	+	-	-	+	+	-	+
94	K/A	+	+	K/K	-	+	-	-	+	+	-	+
99	A/A	-	+	K/K	+	+	-	+	+	+	-	-
100	A/A	+	+	K/K	+	+	-	+	-	+	+	-

Simbología: - (Negativo), + (Positivo)