

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
Colegio de Ciencias Agropecuarias
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Maestría en Ciencias Agropecuarias



TESIS:

“LA IGUANA VERDE (*Iguana iguana*) COMO RESERVORIO DE *SALMONELLA* spp”.

**Que para obtener el grado de Maestra en
Ciencias Agropecuarias**

PRESENTA:

Patricia Guadalupe Ortiz Carrillotes.

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Jesús José Portillo Loera

CODIRECTOR:

Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho

ASESORES

Dra. Idalia Enríquez Verdugo

Dr. Javier Alonso Romo Rubio

Dra. Carlos Bell Castro Tamayo



Universidad Autónoma de Sinaloa

Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd.
Universitarios
C.P. 80010 Culiacán Sin. Méx.
Tel (667) 713 78 32 y
(667) 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

DEDICATORIA

Dedico esta tesis de investigación al MVZ José Villalobos Gaxiola, quien me guio y motivo a seguir el camino de la medicina veterinaria; a mi maestro el Dr. Rubén Barajas Cruz, quien me ayudó a entender que la exigencia es muy necesaria en el camino de la ciencia y la medicina, consejos que siempre eran acompañados con agua mineral; al señor Rubén Peraza Bernal, quien amablemente colaboró a preservar especies endémicas y además abrió las puertas de su negocio para que esta investigación se llevara a cabo; al Ing. Luis Humberto Iriarte, el mejor director que pudo tener el Zoológico de Culiacán, quien me dio la oportunidad de trabajar con especies maravillosas con paciencia y respeto; al señor José Luis Alvares Flores, quien luchó por el bienestar de la flora y fauna y me mostró el mundo de los sarahuatos.

“Si pasas tiempo con los animales,
corres el riesgo de volverte una mejor persona”
(Oscar Wilde)

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis Padres, quienes han apoyado y respetado mis decisiones a lo largo de mi vida, quienes han sido mis principales maestros en este viaje y por quienes conocí el amor a por los animales.

A mi comité de tesis, conformado por el Dr. José Jesús Portillo Loera Dra Soila Maribel Gaxiola Camacho, Dra. Idalia Enríquez Verdugo, Dr. Alonso Romo Rubio y al Dr. Carlos Bell Castro Tamayo, quienes me dieron la oportunidad y el de continuar en la formación mis estudios de posgrado aprendiendo áreas nuevas para mí y por siempre estar a disposición del desarrollo profesional de toda la institución.

A todos mis maestros de licenciatura, quienes, sin su apoyo, esta bella etapa de mi vida no hubiera sido posible.

Al MC Higinio Cepeda Quintero, por su invaluable ayuda en el laboratorio de bacteriología y micología de la FMVZ.

A los MVZ Laura Aguirre y David Pizarro por siempre acompañarme y brindarme su amistad.

CONTENIDO

CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN.....	13
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	15
2.1	Familia Enterobacteriaceae:.....	15
2.2	Género <i>Salmonella</i>	17
2.3	Aspectos epidemiológicos de <i>Salmonella</i>	20
2.3.1	Fuentes de Transmisión.....	20
2.3.2	Patogenia.....	21
2.3.3	Situación mundial de <i>Salmonella</i>	23
2.3.4	Situación de <i>Salmonella</i> en México.	23
2.4	Pérdidas económicas ocasionadas por salmonelosis en el país.	26
2.5	El género <i>Salmonella</i> asociado a los reptiles.	27
2.6	Generalidades de la iguana verde (<i>Iguana iguana</i>).	28
2.6.1	Características anatómicas y biológicas.	29
2.6.2	Hábitat de la iguana verde.	32
2.6.3	Hábitos alimenticios de la iguana verde.	34
2.6.4	Principales enfermedades zoonóticas en la iguana verde.	34
2.6.5	La iguana verde como reservorio de <i>Salmonella</i> spp.	35
2.6.6	Importancia de la salmonelosis en la salud pública.....	36
2.6.7	Incidencia y prevalencia de salmonelosis en reptiles.....	39
2.6.8	Principales especies patógenas de <i>Salmonella</i>	40
2.6.9	Principales reservorios de <i>Salmonella</i> spp.	41
2.7	Importancia de los reptiles como reservorio de <i>Salmonella</i> spp.	42
2.8	Resistencia microbiana en cepas de <i>Salmonella</i>	43
2.9	Antecedentes directos de <i>Salmonella</i> en reptiles.	45
III.	HIPÓTESIS	49
IV.	OBJETIVO GENERAL.....	49
4.1	Objetivos específicos.....	49
V.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	50
5.1	Ubicación de las diferentes áreas de muestreo.	50
5.2	Tipo de estudio.....	50
5.3	Recolección de muestras	51
5.4	Aislamiento e identificación bacteriológica de <i>Salmonella</i> spp.	52
5.4.1	Preparación de muestra	54
5.4.2	Extensión de muestra	54

5.4.3 Fijación con fuente de calor	54
5.4.4 Método de tinción.....	55
5.5 Identificación de la bacteria <i>Salmonella</i> por medio de pruebas bioquímicas.	56
5.6 Identificación de resistencia bacteriológica de <i>Salmonella</i> spp de asilamientos de muestras fecales de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>).	57
5.7 Identificación molecular de <i>Salmonella</i> spp por medio de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa).....	58
5.7 Análisis estadístico.....	60
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
VII. Conclusiones.....	71
VIII. LITERATURA CITADA	73
IX ANEXOS.....	85

CUADRO	<u>ÍNDICE DE CUADROS</u>	PÁGINA
1	Fórmulas antigénicas de los serovares de <i>Salmonella</i> .	<u>18</u>
2	Divisiones ecológicas de importancia clínico-epidemiológica en <i>Salmonella</i>	<u>19</u>
3	Distribución estatal histórica de casos de salmonelosis en personas y detección en productos de origen animal, 2018 - 2020.	24
4	Clasificación zoológica de la Iguana verde (<i>Iguana iguana</i>) (Millefanti, 2016).	28
5	La recolección de muestras de heces de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>).	50
6	Resultados de pruebas fenotípicas en el aislamiento de la bacteria <i>Salmonella</i> spp.	64
7	Resultados de extracción de cepas de <i>Salmonella</i> spp por medio de PCR.	66
8	Resultados de la resistencia a antimicrobianos de cepas extraídas de <i>Salmonella</i> spp en heces de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>).	70

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Morfología típica de <i>Enterobacteriaceae</i> con tinción de Gram	16
2	Ejemplo de flagelos peritricos y movilidad de <i>Salmonella</i> entérica	17
3	Ilustración sobre la fisiopatología de <i>Salmonella</i> spp	22
4	Distribución estatal de casos de infección por <i>Salmonella</i> en personas a nivel nacional	25
5	Ejemplar macho de iguana verde (iguana iguana)	27
6	Ejemplar de iguana verde (Iguana iguana) con prolapso de ambos hemipenes	30
7	Anatomía de plano ventral en lagarto hembra	31
8	Población de iguana verde (Iguana iguana) en el continente americano	33
9	Restos de materia fecal de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>) sobre mesa	37
10	Ejemplar de iguana verde (Iguana iguana) en sitios de convivencia	42
11	Diagrama de material utilizado en la recolección de muestras de heces de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>)	51
12	Muestras fecales de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>) homogenizadas en medio de pre-enriquecimiento BPW	52
13	Enriquecimiento selectivo con caldo RV	53
14	Medios estriados con caldo selectivo RV en agar XLD para aislamiento y generación de UFC de <i>Salmonella</i> spp	53
15	Crecimiento de colonias típicas de <i>Salmonella</i> spp en agar EH y XLD	54
16	Bacilos sugerentes a <i>Salmonella</i> spp	55
17	Pruebas bioquímicas previas a inoculación	56
18	Prueba de resistencia a antimicrobianos de cepas extraídas de <i>Salmonella</i> spp en heces de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>)	58
19	Sitios de recolección de heces de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>) en el parque las Riberas	61
20	Sitios de recolección de heces de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>) en la Isla de Orabá	61

21	Sitios de recolección de heces de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>) en el parque las Riberas del Humaya	62
22	Sitios de recolección de heces de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>) en el Country Club de Culiacán	62
23	Sitios de recolección de heces de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>) en la Chuparrosa enamorada	63
24	Sitios de recolección de heces de iguana verde (<i>Iguana iguana</i>) en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa	63
25	Identificación de cepas de <i>Salmonella</i> en gel agarosa al 1%, utilizando gen <i>invA</i>	67

ÍNDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICA		PÁGINA
1	Estados con mayor porcentaje de casos de <i>Salmonella</i> en personas (2018-2020)	25
2	Comparación de resultados entre estudios convencionales y de biología molecular	68

RESÚMEN

LA IGUANA VERDE (IGUANA IGUANA) COMO RESERVORIO DE *SALMONELLA* spp.

MVZ PATRICIA GUADALUPE ORTÍZ CARRILLOTES.

Salmonella es considerado un patógeno de importancia médica para humanos y animales; los reptiles generalmente no muestran signos de enfermedad por infección de *Salmonella*, por ello se considerada saprófita, la exposición humana a reptiles se considera factor de riesgo significativo para infecciones por *Salmonella*. Debido a la presencia de iguana verde (*Iguana iguana*) en diversas áreas de la ciudad de Culiacán, Sinaloa, el objetivo del estudio es determinar la presencia de *Salmonella* spp en heces de iguana verde (*Iguana iguana*) localizadas en distintas áreas de dicha ciudad. Con base en la característica de las áreas, se formaron estratos según las actividades antrópicas realizadas para determinar técnicas de muestreo. Se colecta heces de 6 sitios de recreo diferentes al azar. El asilamiento microbiológico se efectuó con agares específicos y pruebas bioquímicas. El aislamiento se corroboró por PCR; se realizó prueba de susceptibilidad bacteriana con multidisco PT-35 Multibac I.D. por duplicado, presentando resistencia significativa a ampicilina en un 100% y carbencilina en un 95.23%. Para obtener el intervalo de confianza (IC) de las proporciones, se utilizó el criterio np y n(1-p) mayores de 5 para determinar se era posible utilizar la distribución normal estándar (Z); debido a que no se cumplió para todas las celdas, se utilizó la distribución Binomial para el cálculo de los límites inferiores y superiores de los IC, mediante el código binom, test de la librería stats de R. El resultado de pruebas convencionales se confirmó la presencia de *Salmonella* en heces de iguana verde en el 75.22% de las muestras, siendo respaldados con las pruebas de biología molecular con un total de 69.56% indicando una alta frecuencia de la presencia de la bacteria *Salmonella* en las heces de iguana verde y su posible relación antropomórfica ya sea por la cercanía de diferentes cuerpos de agua contaminados, la invasión a su hábitat o la convivencia con humanos, así como su importancia en salud pública.

ABSTRACT

Salmonella is considered a medically important pathogen for humans and animals; Reptiles generally do not show signs of illness from Salmonella infection; therefore, it is considered saprophytic, human exposure to reptiles is considered a significant risk factor for Salmonella infections. Due to the presence of green iguana (*Iguana iguana*) in various areas of the city of Culiacán, Sinaloa, the objective of the study is to determine the presence of Salmonella spp in feces of green iguana (*Iguana iguana*) located in different areas of said city. Based on the characteristics of the areas, strata were formed according to the anthropic activities carried out to determine sampling techniques. Feces were collected at random from 6 different recreational sites. Microbiological isolation was carried out with specific agars and biochemical tests. Isolation was confirmed by PCR; bacterial susceptibility testing was performed with PT-35 Multibac I.D. multidisc in duplicate. To obtain the confidence interval (CI) of the proportions, the np and n(1-p) criteria greater than 5 were used to determine whether it was possible to use the standard normal distribution (Z); since it was not fulfilled for all cells, the Binomial distribution was used to calculate the lower and upper limits of the CIs, using the binom.test code of the R stats library. The result of conventional tests confirmed the presence of Salmonella in green iguana feces in 75.22% of the samples, being supported by molecular biology tests with a total of 69.56% indicating a high frequency of the presence of the Salmonella bacteria in green iguana feces and its possible anthropomorphic relationship either due to the proximity of different contaminated bodies of water, the invasion of its habitat or coexistence with humans, as well as its importance in public health.

I. INTRODUCCIÓN

El aumento y la expansión urbana a nivel nacional han generado el desarrollo de situaciones perjudiciales para la flora y la fauna a nivel mundial; propiciando la reducción de ambientes naturales para la reproducción y la vida adecuada de especies endémicas en diferentes regiones de México y el mundo.

Las iguanas juegan un papel importante en los ambientes donde habitan y del cual forman parte de la cadena alimenticia, son controladoras de plagas y pueden contribuir en la regeneración de la vegetación mediante la dispersión de semillas (Gómez *et al.*, 2012). Muchos reptiles incluyendo la iguana verde (*Iguana iguana*), albergan *Salmonella* como parte de su microbiota normal sin mostrar signos clínicos (Sylvester *et al.*, 2013).

La salmonelosis es un trascendental problema de salud pública a nivel mundial. Se reconoce como una zoonosis, el patrón epidemiológico general de la infección por *Salmonella* está relacionado de manera predominante por reservorios animales (Sylvester *et al.*, 2013).

La *Salmonella* asociada a reptiles se reconoce como una zoonosis emergente y se asocia constantemente con una enfermedad invasiva. Ha sido reportada sobre todo en niños o personas inmunocomprometidas (Sauteur *et al.*, 2013).

Mitchell *et al.*, (2000) realizaron un estudio de identificación rutinaria de *Salmonella* en una granja de iguanas verdes en El Salvador para identificar fuentes de *Salmonella* spp. en iguanas verdes adultas, crías y embriones, así como su entorno (alimento, agua, suelo, refugio, insectos y lagartijas silvestre). *Salmonella* spp se aisló del intestino de iguanas adultas (3/20) y crías (8/20). No se mostró evidencia de *Salmonella* spp. en el tracto reproductivo en iguanas (0/10), *Salmonella* spp. fue aislada de las superficies en el 40% (7/16) de huevos analizados; además no se identificó en saco vitelino externalizado en embriones de iguana evaluados. Las muestras de suelo de un corral de cría y nido resultaron positivas a *Salmonella* spp. Además de identificaron 8 distintos serotipos; estos resultados sugieren la transmisión horizontal de *Salmonella* spp. es una potencial fuente de exposición para las crías de iguana en la instalación.

Sylvester *et al.*, 2013, menciona sobre las iguanas en cautiverio mantenidas como mascotas, representan una fuente frecuente de salmonelosis en humanos, ya sea por medio del contacto directo o indirecto con las heces de estos reptiles. En dicho año realizaron un estudio en Granada, indias Occidentales; utilizando 62 muestras de heces de iguana, las cuales fueron aisladas con un agar específico e identificadas por medio de pruebas de aglutinación; como resultado del aislamiento se observó el 55% de muestras positivas, como serovariedad más común *S. Rubislaw* (59%), seguido de *S. Oranienburg* y otras serovariedades, confirmando, así como las iguanas verdes en Granadas son reservorios de *Salmonella*, y pueden ser causantes de enfermedades humanas en el hemisferio occidental.

La OMS señala a la resistencia a antimicrobianos como una importante amenaza para la salud pública, principalmente por el uso inadecuado de medicamentos antimicrobianos y su consecuente farmacorresistencia generando tratamientos ineficaces e infecciones cada vez más difíciles de erradicar.

En el presente estudio se determina la presencia de *Salmonella* spp. en heces de iguana verde (*Iguana iguana*) habitantes de las áreas verdes utilizadas para la recreación de la población de la ciudad de Culiacán, Sinaloa.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Familia Enterobacteriaceae:

La familia *Enterobacteriaceae* se considera un grupo heterogéneo y extenso de bacilos Gram negativos cuyo hábitat natural es intestino del ser humano y los animales. Esta familia está compuesta por diferentes géneros (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, entre otros). Existen microorganismos entéricos como *Escherichia coli* considerados; como parte del microbiota normal; en reducidas ocasiones esta genera enfermedades; sin embargo, otros microorganismos como *Salmonella* y *Shigella* son considerados patógenos para el ser humano (Jawetz, Melnick, y Adelberg's, 2016).

La taxonomía de este grupo de bacterias se considera compleja y cambia constantemente. La National Library of Medicine's Internet Taxonomy considera la definición de 63 géneros; no obstante, las especies de relevancia clínica de la familia *Enterobacteriaceae* comprenden entre 20 y 25 miembros (*E. coli*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Proteus*, *Yersinia*, *Serratia*, *Salmonella*, entre otros). La familia *Enterobacteriaceae* presenta diferentes características: son bacilos Gram negativos (Figura 1), pueden ser móviles con flagelos peritricos o no móviles. Son capaces de reproducirse en medios peptonados o en extracto de carne; logran proliferar en medios aerobios y anaerobios, fermentan en lugar de oxidar glucosa produciendo gas en ocasiones; con excepción de *Plesiomonas*, son catalasa positiva y oxidasa negativa, reducen nitratos a nitritos y pueden ser diferenciadas a nivel de especie por medio del conjunto de diferentes pruebas bioquímicas; además, presentan en su contenido de ADN de un 39% a 59% de guanina más citosina (G+C) (Jawertz, Melnick, y Adelberg's, 2016).

En su mayoría, los serotipos de *Salmonella* crecen en un rango de temperatura desde 5°C a 47°C, con una temperatura óptima de 35°C-37°C, algunas pueden llegar a crecer a 2°C o 4°C y hasta 54°C. El pH de crecimiento oscila entre 4-9 con un óptimo entre 6.5 y 7.5. Se desenvuelven adecuadamente a una actividad de agua (aw) de 0.99 a 0.94, pueden llegar a sobrevivir en alimentos secos con un aw de <0.2. Su crecimiento se inhibe completamente a temperaturas inferiores a 7°C, pH < 3.8 y un aw < 0.94. Se caracterizan por ser de amplia distribución, altamente patógenos y de difícil aislamiento (Gonzales *et al.*, 2014).

Morfológicamente son bacilos cortos de 2 a 4 μm , en su mayoría forman colonias circulares, convexas y lisas. *Salmonella* y *Shigella* producen colonias similares a *E. coli* con la diferencia de no fermentar lactosa (excepto *Salmonella arizonae*) (Jawertz, Melnick, y Adelberg's, 2016).

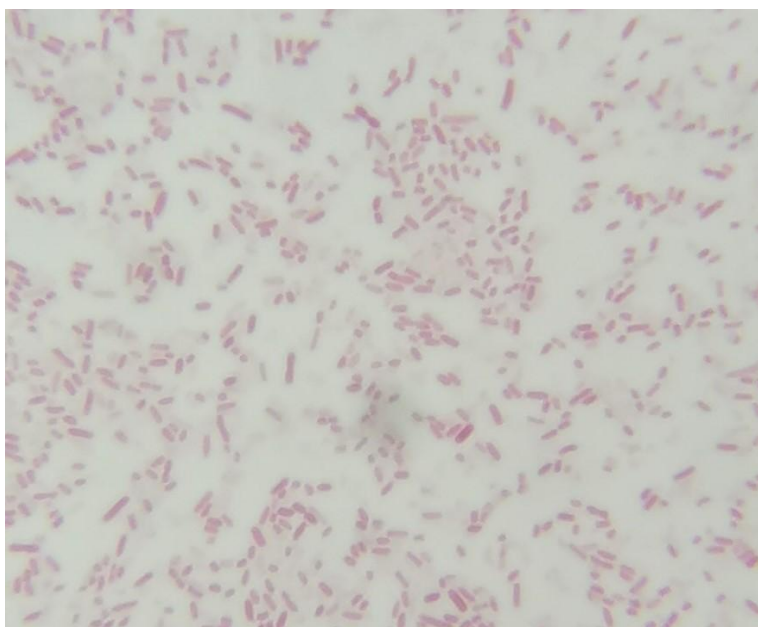


Figura 1. Se observa morfología típica de las *Enterobacteriaceae* a 100X con Tinción de Gram de una muestra de *Salmonella* (Ortíz, 2021).

De manera característica durante su desarrollo, son utilizados patrones de fermentación de hidratos de carbono y actividad de las descarboxilasas en la diferenciación bioquímica. *Salmonella* tiene una longitud variable. Una gran porción de las cepas es móvil y presentan flagelos peritricos; se reproducen con éxito en medios simples, pero casi nunca fermentan lactosa ni sacarosa. Forman ácido y en ocasiones gas a partir de glucosa y manosa. Suelen producir ácido sulfhídrico (H_2S). Sobreviven al congelamiento en agua por periodos prolongados. Las salmonelas son resistentes a determinadas sustancias químicas (p. ej., verde brillante, tetrationato de sodio, desoxicolato de sodio) inhibiendo a otras bacterias entéricas; estos compuestos son, por lo tanto, útiles para incluirlos en medios para aislar salmonelas de las heces (Jawertz, Melnick, y Adelberg's, 2016)

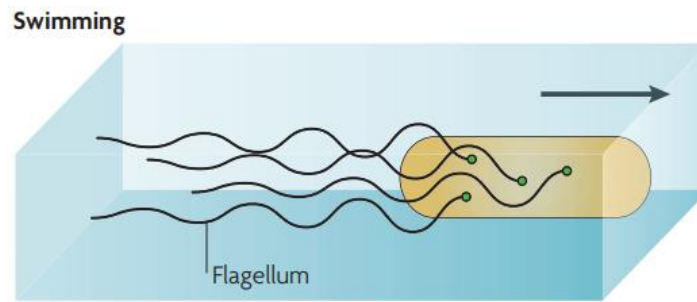


Figura 2.- Ejemplo de flagelos perítricos y movilidad. *Salmonella enterica* requiere la presencia de suplementos particulares (por ejemplo, glucosa). Por Daniel B. Kearns (2010). *A field guide to bacterial swarming motility*.

2.2 Género *Salmonella*.

Salmonella es considerado un patógeno de importancia médica para humanos y animales; los reptiles generalmente no muestran signos de enfermedad por infección de *Salmonella enterica* y la relación con estos es considerada saprófita (Ebani *et al.*, 2005).

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y está constituido por bacterias Gram negativo intracelulares facultativas, se han agrupado en especies de *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*; al mismo tiempo *Salmonella enterica* presenta cinco subespecies; *S. enterica* (I), *S. salamae* (II), *S. arizonae* (IIIa), *S. diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) y *S. indica* (VI). Sin embargo, el potencial patogénico se encuentra representado por *S. enterica* y por sus más de 2.500 serotipos (Center for Disease Control and Prevention (CDC), 2013).

Cuadro 1. Fórmulas antigénicas de los serovares de *Salmonella*, así como su clasificación.

<i>Clasificación de Salmonella</i>			
Especie	Subespecie	Número de serotipos	Hábitat usual
<i>S. enterica</i>	Subsp. enterica (I)	1531	Humanos, animales de sangre caliente.
	Subsp. Salamae (II)	505	Animales de sangre caliente y sangre fría y ambiente.
	Subsp <i>arizonae</i> (IIIa).	99	Animales de sangre caliente y sangre fría y ambiente.
	Subsp <i>diarizonae</i> (IIIb).	336	Animales de sangre caliente y sangre fría y ambiente.
	Subsp <i>houtenae</i> (IV).	73	Animales de sangre caliente y sangre fría y ambiente.
	Subsp <i>Indica</i> (VI).	13	Animales de sangre caliente y sangre fría y ambiente.
<i>Salmonella bongori</i> (V).		22	Animales de sangre caliente y sangre fría y ambiente.
<i>Total</i>		2579	

Centro Colaborador de la OMS para Referencia e Investigación sobre *Salmonella* e Instituto Pasteur (Grimont *et al.*, 2007).

Para la bacteriología clínica, *Salmonella* es un bacilo patógeno primario (similar a *Shigella* y algunas cepas de *E. coli*), anaerobio facultativo, algunos móviles y no fermentan lactosa, excepto *Salmonella choleraesuis* subesp. *arizonae* y *Salmonella choleraesuis* subesp. *diarizonae*. *S. typhi* es la única serovariedad no producen gas durante la fermentación de azúcares (Bravo *et al.*, 2002).

El esquema de Kauffman-White fue publicado por primera ocasión en 1929, divide a *Salmonella* en más de 2.600 serotipos basados en reacciones serológicas los antígenos lipopolisacáridos somático (O), flagelar (H) y capsular (Vi) (Grimont *et al.*, 2007).

Los serotipos de *Salmonella* pueden también ser divididos en tres diferentes rangos de hospedadores influyendo en su presentación clínica (Uzzau *et al.*, 2000; Stevens *et al.*, 2009).

En el hospedador generalista se incluye *Salmonella enterica* serovariedad Typhimurium (*S. typhimurium*) y *S. enteritidis* la cual causa infecciones en huéspedes humanos y animales (Barrow y Methner, 2013).

Cuadro 2.- Con importancia clínico-epidemiológica, las más de 2000 serovariedades de *Salmonella* pueden agruparse en tres divisiones ecológicas para fines prácticos

Grupo	Afecta	Ejemplos
I	Humanos y animales	<i>S. typhimurium</i> <i>S. enteritidis</i>
II	Humano	<i>S. typhi</i> <i>S. paratyphi A</i> <i>S. paratyphy C</i>
III	Especies animales	

Clasificación epidemiológica (Stanchi, 2007).

2.3 Aspectos epidemiológicos de *Salmonella*.

Salmonella es una de las importantes causas de enfermedades diarreicas, aunque la mayoría de los casos son leves, ocasionalmente es mortal. La gravedad de la enfermedad depende de factores propios del huésped y del serotipo de *Salmonella* (OMS, 2020).

Los casos de salmonelosis en humanos a menudo son asociados a los alimentos, sin embargo, con frecuencia las personas contraen la infección a partir de material infectado, principalmente heces, eliminadas por animales domésticos de sangre caliente. Ahora se reconoce la salmonelosis humana asociada con mascotas exóticas como un problema emergente de salud pública (Ebani *et al.*, 2005).

En su totalidad, los serotipos de *Salmonella* son considerados potencialmente patógenos, pocos son específicos de determinados huéspedes y pueden albergarse en algunas especies animales, por ejemplo; *Salmonella enterica* serotipo Dublin en vacunos, y *Salmonella enterica* serotipo Choleraesuis en porcinos. Cuando esos serotipos particulares provocan la enfermedad en las personas suelen ser invasivos y pueden ser mortales (OMS, 2020).

2.3.1 Fuentes de Transmisión

Las principales fuentes de transmisión según la Organización Mundial de la Salud son los alimentos contaminados, el agua contaminada y los animales infectados (OMS, 2021).

Por lo general salmonelosis es adquirida a través del consumo de alimentos contaminados de origen animal y ha sido vinculado a otros alimentos como las hortalizas contaminadas con estiércol (OMS, 2020).

Salmonella se encuentra presente en animales domésticos y salvajes. Prevalece en animales comestibles como las aves de corral, los porcinos y vacunos, así como en mascotas como gatos, perros y reptiles como las tortugas (OMS, 2020).

Los reptiles infectados pueden transmitir *Salmonella* a otros animales domésticos, como perros y gatos, lo aumenta la exposición para los humanos (Bertelloni *et al.*, 2016).

La transmisión entre personas se da por vía fecal-oral. Otros casos ocurren cuando las personas entran en contacto con animales infectados, a menudo mascotas; las cuales no presentan signos clínicos de la enfermedad (OMS, 2020).

2.3.2 Patogenia

Para el progreso de una enfermedad bacteriana es primordial la localización de la bacteria en un ambiente apropiado para su establecimiento, replicación y expresión de sus factores de virulencia (Figueroa *et al.*, 2005).

El género *Salmonella* se caracteriza por causar infecciones a nivel gastrointestinal; también puede causar, con menor frecuencia infecciones localizadas en diferentes órganos, lo anterior se considera asociado a inmunosupresión (Tacchini *et al.*, 2010).

La patogenia de *Salmonella* comienza con la ingestión de un inóculo elevado de microorganismos; adherencia al enterocito, fosforilación del receptor EGF (Receptor del factor del crecimiento epidérmico): cambios drásticos de Ca^{2+} intracelular, reorganización del citoesqueleto de actina; internalización; supervivencia dentro de las vacuolas fagocíticas, liberación de endotoxinas, translocación hacia la lámina propia, disparo de respuestas quimiotácticas e infección local o regional. La infección sistémica se origina debido a la sobrevivencia dentro de las vacuolas fagocíticas de los macrófagos inhibiendo la acción de las enzimas lisosomales. Esta bacteria puede alcanzar la circulación sanguínea causando bacteriemia, con la posibilidad de encontrar bacilos latentes en el sistema retículo endotelial, con una posterior reactivación y así migrar por el torrente sanguíneo a otros órganos (Figueroa *et al.*, 2005).

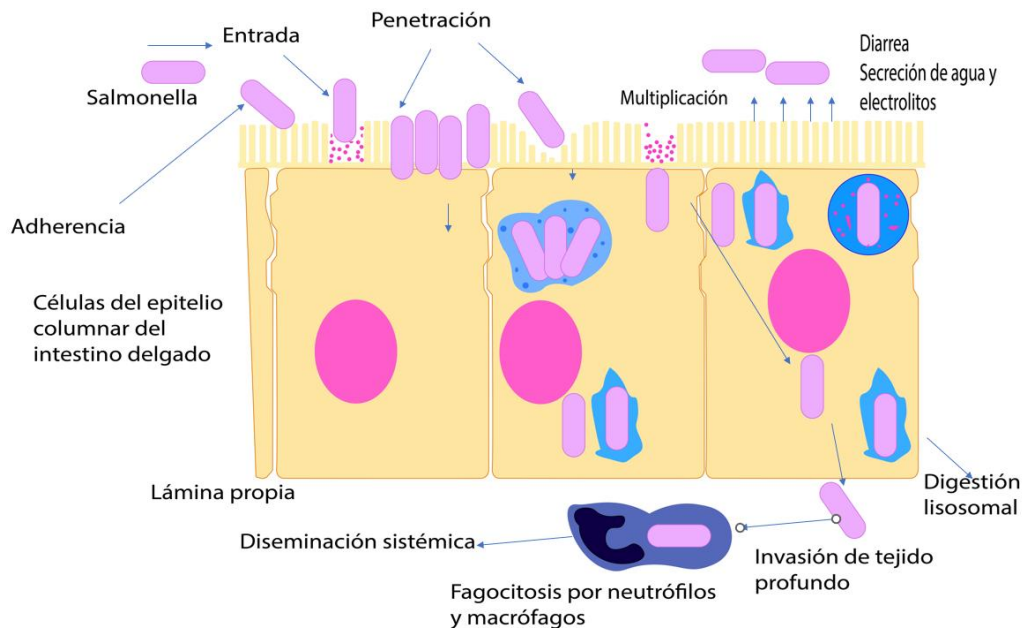


Figura 3.- Ilustración sobre la fisiopatología de *Salmonella* spp (Stanchi, 2007).

El ciclo de infección de *Salmonella* inicia con la irrupción al hospedero por medio de tejido linfóide, incluyendo las placas de Peyer y tonsilas cecales en las aves. Se adhiere apicalmente a las células epiteliales del íleon y a las células M, debido a la ausencia del borde de cepillo, así como de glicocálix, esto representa una puerta de ingreso idóneo para las enterobacterias. *Salmonella* se dirige a células hospederas normalmente no son fagocíticas como la superficie de la capa mucosa de células epiteliales. La invasión del hospedero se lleva a cabo por medio de un mecanismo conocido como disparo (*trigger*) a las células epiteliales induciendo rearrreglos del citoesqueleto formando ondulaciones (*ruffling*) en su superficie, como respuesta al contacto. La regulación del anclaje, englobamiento y replicación se debe a los islotes de patogenicidad I y II. El Islote de patogenicidad I cataloga las proteínas invasivas producidas por *Salmonella* y un sistema de secreción tipo III introduce las proteínas en el interior de la célula hospedadora. El Islote de patogenicidad II permite a la bacteria escapar de la respuesta inmune del hospedador. La respuesta inflamatoria, limita la infección del TGI, media la liberación de prostaglandinas, estimula la AMPc y la secreción activa de líquidos (Tacchini *et al.*, 2010).

La salmonelosis en humanos se caracteriza por fiebre, dolor abdominal, diarrea, náuseas y vómitos, estos síntomas se presentan de 6 a 48 h después de la exposición al patógeno (OMS, 2020).

2.3.3 Situación mundial de *Salmonella*.

Esta enfermedad es de distribución mundial, puede permanecer durante meses en agua y semanas en lugares secos; afecta principalmente a niños pequeños menores de 5 años, ancianos y personas inmunocomprometidas (OMS, 2020).

Se reporta anualmente un aproximado de 550 millones de personas enfermas de las cuales 220 millones son niños menores de 5 años (OMS, 2019).

En Estados Unidos se estima, al año, *Salmonella* causa aproximadamente 1.35 millones de infecciones de las cuales 26,500 se derivan a hospitalizaciones y 420 terminan en decesos (Center for Diseases Control and Prevention, 2020).

2.3.4 Situación de *Salmonella* en México.

En México las enfermedades gastrointestinales infecciosas representan uno de los riesgos sanitarios más frecuentes afrontados por la población y son la segunda causa de mortalidad a nivel nacional (Dirección Nacional de Epidemiología (DGE), Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINVAE), 2016).

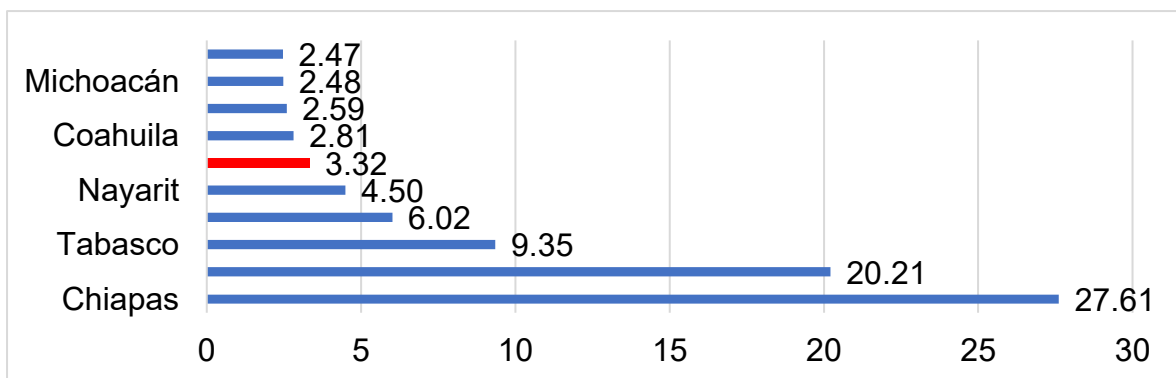
Zaidi *et al.* (2016), mencionan México no presenta estadísticas exactas de las infecciones por *Salmonella*, debido generalmente a diagnósticos médicos con base a la sintomatología presentada por los pacientes, sin contar con estudios microbiológicos necesarios para realizar un diagnóstico certero.

En 2020, el número total de infecciones por *Salmonella* registradas en personas alcanzó los 64,778 casos, de los cuales el 25.4% (16,466) correspondieron a fiebre tifoidea, 8.4% (5,468) a paratifoidea, y el 66.2% a otras salmonelosis, con un posible origen zoonótico (SENASICA 2020).

Cuadro 3.- Distribución estatal histórica de casos de salmonelosis en personas y detección en productos de origen animal, 2018 - 2020.

Estado	2018		2019		2020	
	Casos en personas	Detección en productos	Casos en personas	Detección en productos	Casos en personas	Detección en productos
Chiapas	20,469	*	19,585	*	12,774	*
Veracruz	13,983	0	15,593	2	9,098	0
Tabasco	7,877	*	6,902	*	3,106	*
Puebla	4,917	*	4,189	*	2,406	*
Nayarit	2,630	*	3,840	*	2,132	*
Sinaloa	2,353	1	2,283	3	1,718	2
Jalisco	1,890	0	1,661	0	1,402	1
Chihuahua	3,333	8	3,223	2	1,275	1
México	1,523	1	1,727	1	1,013	2
Michoacán	1,879	0	1,890	0	970	0
Coahuila	1,865	0	2,568	0	946	0
Oaxaca	1,639	*	1,644	*	875	*
Guerrero	1,442	*	1,349	*	845	*
Tamaulipas	2,498	1	1,533	1	689	0
Quintana Roo	2,503	*	1,511	*	654	*
Guanajuato	754	*	1,032	0	535	0
Baja California	988	0	645	0	346	0
CDMX	784	*	770	*	300	0
San Luis	1,068	2	781	1	294	2
Potosí						
Zacatecas	906	*	546	*	255	0
Aguascalientes	492	1	535	0	187	0
Yucatán	987	*	1,036	*	184	*
Tlaxcala	654	*	472	*	171	*
Sonora	518	0	274	1	160	2
Nuevo León	393	6	324	2	123	7
Colima	155	*	84	*	84	*
Morelos	202	4	162	3	83	5
Hidalgo	252	0	262	0	81	0
Baja California Sur	166	*	125	*	69	*
Campeche	335	*	68	*	64	*
Querétaro	153	4	47	1	13	4
Durango	24	1	9	3	12	1
TOTAL	79,659	29	76,670	20	42,864	37

SSA, CENAPA (1) Representa los casos de otras salmonelosis distintas a Tifoidea y Paratifoidea, SSA, (2) órdenes de servicio con resultado positivo, CENAPA. (*) Periodo sin diagnósticos registrados



Gráfica 1. Estados con mayor porcentaje de casos de Salmonelosis en personas (2018 - 2020).

Entre 2018 y 2020, las entidades federativas con la mayor cantidad de diagnósticos positivos a salmonelosis (distinta a tifoidea y paratifoidea), fueron Chiapas (52,855) Veracruz (38,674), Tabasco (17,885), Puebla (11,512), Nayarit (8,602), Chihuahua (7,831) y Sinaloa (6,354); algunas de ellas coincidiendo con las mayores cifras estatales de detecciones en productos de origen animal, como Chihuahua (21), Sinaloa (6) y Veracruz (2), sin embargo, otras como Chiapas, Tabasco, Puebla y Nayarit, no registraron la realización de ningún análisis al respecto en productos de origen animal durante el periodo (SENASICA 2020).

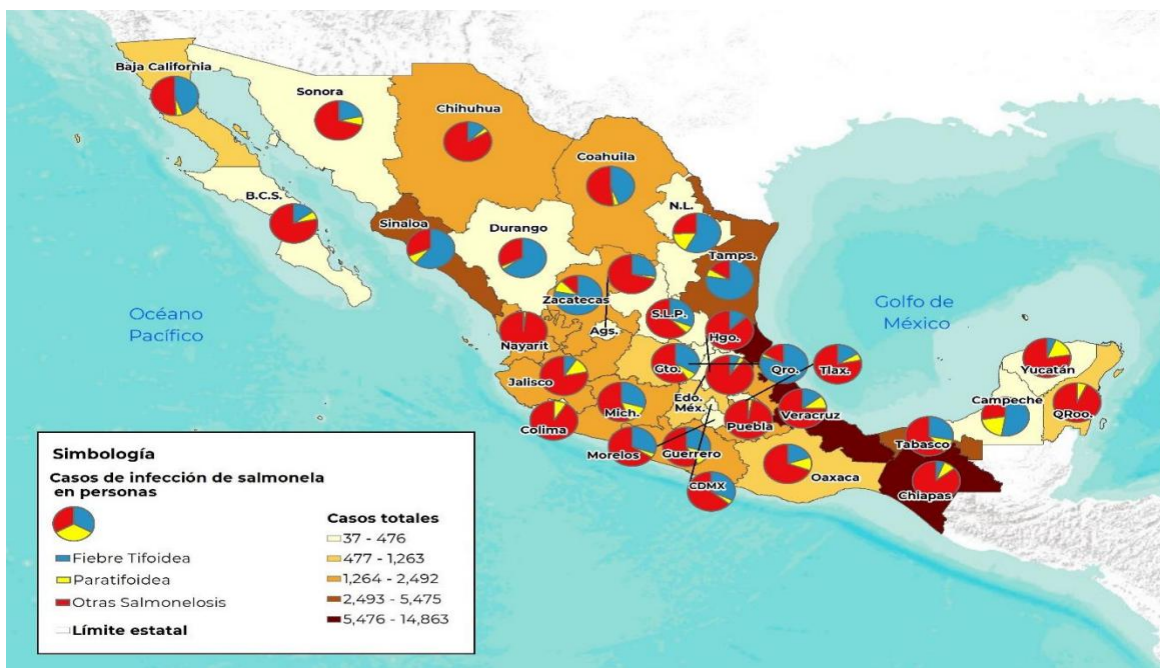


Figura 4.-Distribución estatal de casos de infección por *Salmonella* en personas a nivel nacional. SENASICA (2020). Panorama Nacional de *Salmonella*.

2.4 Pérdidas económicas ocasionadas por salmonelosis en el país.

La salmonelosis ocasiona pérdidas considerables en la producción pecuaria, afectando principalmente a las aves, además también afecta a la producción proveniente de bovinos, caprinos, ovinos, entre otros. El 6 de agosto de 2020, México emitió una notificación inmediata ante la organización mundial de sanidad animal (OIE) informando sobre la detección de un foco de 500 animales susceptibles con un valor estimado de 26,655 pesos, 150 animales muertos con un valor estimado de 7,996.50 pesos y 350 animales sacrificados con un valor estimado de 18,658.50 pesos, para el 2 de octubre del mismo año fue reportado un nuevo foco con 18 animales susceptibles y sacrificados, con un valor estimado de 959.58, acumulando pérdidas totales por muerte y sacrificio de 27,614.58, dichas pérdidas corresponden al estado de Hidalgo (SENASICA 2020).

2.5 El género *Salmonella* asociado a los reptiles.

Se ha establecido el hábitat natural de los miembros del género *Salmonella* siendo el intestino de vertebrados de sangre caliente y sangre fría; para posteriormente ser dispersados en el ambiente, donde a su vez pueden sobrevivir y multiplicarse (Cohen *et al.*, 1980).

La subespecie I (*enterica*), asociada principalmente con organismos de sangre caliente, a menudo se encuentra en reptiles; debido a su probable presencia en alimentos como roedores o vegetales crudos. La exposición a los reptiles se asocia con un riesgo cuatro veces mayor de infección por *Salmonella* spp (Mughini-Gras *et al.*, 2016).

La Iguana verde (*Iguana iguana*), alberga *Salmonella* spp como parte de su microbiota intestinal normal, sin presentar signos clínicos (Barrow, 2013).



Figura 5.- Ejemplar macho de Iguana verde (*Iguana iguana*) habitante de una de las áreas verdes de la ciudad de Culiacán, Sinaloa. (Ortíz, 2021).

2.6 Generalidades de la iguana verde (*Iguana iguana*).

Las iguanas pertenecen a la familia Iguanidae, y se clasifica como Squamata, Toxicofera; Iguania; Pleurodonta; su taxon hermano es Crotaphytidae. Se distribuye en el continente americano desde el suroeste de Estados Unidos hasta Paraguay y el sur de Brasil, las Antillas, Galápagos e islas del centro oeste del Pacífico (Vitt y Caldwell, 2014); puede variar en tamaño corporal desde 7.7 cm de longitud de nariz-cloaca (LNC) en neonatos hasta 50 cm LNC en adultos machos, con una longitud total de casi dos metros incluyendo la cola (Bock, 2018); es una especie tropical, poiquilotérmica, diurna, arbórea y predominantemente folívora, nativa de Centro y Sudamérica. Las iguanas verdes se han introducido con éxito en el Caribe, Estados Unidos, Fiji y Hawaii (Sylvester *et al.*, 2013).

Cuadro 4.- Clasificación zoológica de la Iguana verde (*Iguana iguana*).

Orden	Squamata
<i>Suborden</i>	Sauria
<i>Infraorden</i>	Iguania
<i>Familia</i>	Iguanidae
<i>Subfamilia</i>	Iguaninae
<i>Género</i>	Iguana

(Millefanti, 2016).

2.6.1 Características anatómicas y biológicas.

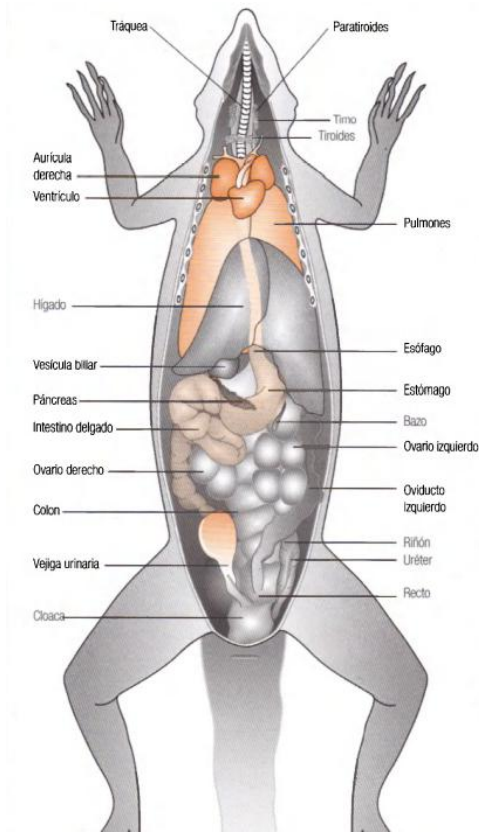
La iguana verde, y otros reptiles, presentan circulación porta-renal y hepática. Los reptiles terrestres son uricotélicos, debido a la eliminación principalmente ácido úrico en lugar de urea; poseen glóbulos rojos nucleados. Son ovíparos, presentan una tasa metabólica reducida; desarrollan de manera estacional un fenómeno llamado ecdisis, donde la piel cambia de manera natural periódicamente; requieren un rango amplio de luz ultravioleta por razones fisiológicas y psicológicas (síntesis de vitamina D3 y metabolismo del calcio); otro fenómeno presentado es la ectotermia, en donde el metabolismo recae en el calor del medio ambiente y el comportamiento para mantener la temperatura corporal óptima (TCO). El tegumento de las iguanas y otros lacértidos están cubiertos de escamas las cuales los protegen de la desecación. Las escamas son originadas en la epidermis y contienen queratina la cual provee la capacidad de la conservación del agua; estas se modifican y forman la creta, espinas y garras. La dermis contiene los cromatóforos, estos aportan el rango de coloración (O'Maley, 2009).

La mayoría de los lacértidos presentan aperturas auditivas externas y parpados estos pueden cerrarse; algunas especies presentan un ojo parietal localizado en el cráneo usualmente cubierto por escamas opacas; esta estructura está conectada mediante tejido nervioso al cuerpo pineal del cerebro, se asocia su función con relación al fotoperiodo. En el sistema genitourinario la fertilización es interna, ocurre en el oviducto y éste generalmente viene en número par. Los machos presentan dos tractos reproductivos separados los cuales comienzan con testículos independientes y terminan en un hemipene; de esta forma si el macho carece de contenido espermático de un testículo puede utilizar el segundo. En algunas especies de reptiles la hembra puede almacenar el esperma (O'Maley, 2009).



Figura 6. Se observa a un ejemplar de iguana verde macho con prolapso de ambos hemipenes (O'Maley, 2009).

De acuerdo con el sistema gastrointestinal es similar al de otros vertebrados, la mayoría de las lagartijas tiene dientes y son reemplazados en forma continua durante sus vidas, también tienen una lengua bien desarrollada. En general el tracto gastrointestinal consiste en una cavidad oral grande, con una glotis inmediatamente posterior a la lengua. El esófago desemboca en el estómago, el cual generalmente tiene forma de S. Todas las lagartijas presentan vesícula biliar. El hígado, el bazo y el páncreas están bien desarrollados. Los lacértidos tienen en el paladar dos aberturas rostrales en donde las narinas y el órgano de Jacobson se abren hacia la boca. La glotis y otros cartílagos forman la laringe, la misma da comienzo a la tráquea, compuesta por anillos cartilaginosos; se extiende por el cuello caudal al esófago, y se bifurca en un par de bronquios, de los cuales cada uno entra en un pulmón (O'Maley, 2009; Vitt y Caldwell, 2014).



En la mayoría de los reptiles el corazón está formado por dos atrios y un ventrículo; existe un septo ventricular parcial, pero la sangre oxigenada y la no oxigenada no se prácticamente no se mezclan. La vena ventral media es una característica importante y debe ser tomada en cuenta cuando se planea cualquier procedimiento quirúrgico el cual precise un abordaje hacia la cavidad celómica (O'Maley, 2009).

Figura 7. Vista ventral de lagarto hembra mostrando anatomía interna (O'Maley, 2009).

El sistema endocrino se compone por un gran número de glándula ubicadas por todo el cuerpo. Estas glándulas se consideran un sistema integrador, cuya función es el inicio y coordinación de reacciones corporales a los diferentes estímulos internos y externos. Difiere del sistema nervioso; las glándulas endocrinas no tienen comunicación directa entre sí o con sus órganos diana. Depende de vías vasculares y neurales para la transmisión de distintos mensajeros químicos. Se distingue de otros sistemas de órganos por su composición de estructuras anatómicas no relacionadas con otros sistemas, como la pituitaria de los sistemas nervioso y digestivo, las gónadas del sistema reproductivo o el páncreas del sistema digestivo. Como característica común de los órganos endocrinos es la secreción de diferentes mensajeros químicos, hormonas estimulantes o inhibitoras de acciones para uno o más órganos diana (Jacobson, 2021).

El sistema músculo esquelético en los reptiles es variado, en las lagartijas el cráneo es cinético, permitiendo una gran apertura y ventajas mecánicas durante el cierre mandibular. La sínfisis se encuentra fusionada; la disposición muscular del cráneo genera una mordida rápida. La columna vertebral es móvil y al mismo tiempo flexible. La cintura escapular se compone por escápulas, huesos coracoides y clavículas. El húmero es corto y radio/cubito. La extremidad posterior se conforma por un fémur corto, tibia y peroné en conjunto con la rótula (Divers y Stahl, 2019).

2.6.2 Hábitat de la iguana verde.

A pesar de la distribución amplia de la iguana verde (*Iguana iguana*) en los bosques tropicales los cuales abarcan desde México, América Central, Perú, sur de Brasil, Paraguay, las Antillas Menores y otras Islas del Caribe como San Andrés, Providencia y Curacao, es una especie catalogada en protección especial de acuerdo con la NOM-059-ECOL-2010 y se encuentra en el apéndice I de la Convención sobre el Comercio Internacional de especies amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (Leyequien-Abarca *et al.*, 2019; Vitt y Caldwell, 2014).

La importancia del hábitat para las especies animales se puede entender por el comportamiento de selección de las comunidades vegetales, proveen recursos adecuados para satisfacer las necesidades de manutención, reproducción, disminución del riesgo de mortalidad por condiciones climáticas severas y depredación (Leyequien-Acarca *et al.*, 2019).

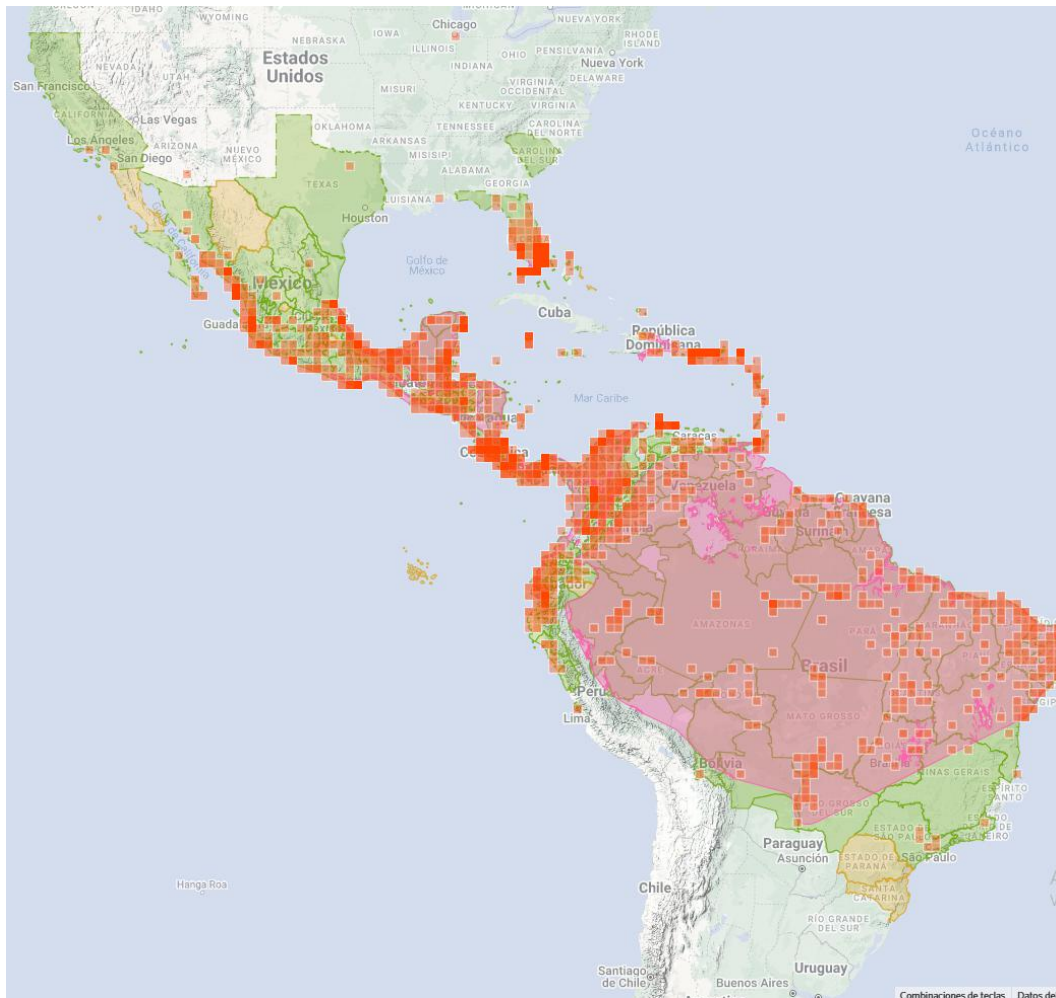


Figura 8. Indica la población de iguana verde en el continente americano. (<https://www.naturalista.mx/taxa/35342-Iguana-iguana>).

En las zonas de origen de la iguana verde, el tipo de clima más común es el húmedo tropical de la selva pluvial, caracterizada por una temperatura media anual de 25°C, con mínimas variaciones térmicas durante el año. Algunas regiones habitadas por las iguanas verdes están influidas por un clima tropical moderado o un clima monzónico (Millefanti, 2016).

La conducta de estos organismos es utilizar la vegetación más alta, los adultos son territoriales y mantienen un amplio contacto entre los territorios de machos y hembras, sin embargo, presentan enfrentamientos físicos directos entre

miembros del mismo sexo y al respecto las iguanas necesitan un ambiente donde no perturbe su desarrollo, factores como el ruido además de la presencia humana puede alterar el comportamiento de dichas especies (Hernández y Vázquez, 2016).

2.6.3 Hábitos alimenticios de la iguana verde.

La iguana verde es uno de los pocos herbívoros generalistas de dosel los bosques tropicales, pero aun así hay evidencia donde presentan ciertas preferencias por algunas especies de plantas en particular, no necesariamente por las más abundantes (Campos *et al.*, 2014).

El consumo de caracoles e insectos habitantes la vegetación probablemente es secundario; también se ha documentado el consumo de tejido de animales muertos y heces de con específicos o de otras especies; posiblemente este comportamiento se relaciona con el mantenimiento de la fauna intestinal microbiana para la fermentación de material vegetal. La termorregulación en juveniles y adultos está estrechamente relacionada con los procesos digestivos (Bock, 2018).

2.6.4 Principales enfermedades zoonóticas en la iguana verde.

Con respecto a la iguana verde se ha comentado con anterioridad la distribución geográfica donde se encuentra; sin embargo, a nivel mundial la popularidad de los reptiles como mascotas no convencionales ha aumentado en Europa y Estados Unidos; la iguana verde se mantiene con frecuencia como mascota (Taddei *et al.*, 2010).

En general, *Salmonella* spp es considerada patógena humana tanto en países en desarrollo como en países industrializados (Hendriksen *et al.*, 2011). Cabe señalar sobre el 70% de las infecciones causadas por *Salmonella* spp es causada solo por 12 serotipos, lo cual indica la mayoría de los serotipos no son patógenos en sus hospederos naturales (Lan *et al.*, 2009).

La infección por *Salmonella* no tifoidea es producida durante la ingesta de alimentos de origen animal, productos alimenticios o agua contaminada con

heces de humanos o de animales portadores como reptiles (lagartos, serpientes, tortugas) y anfibios (ranas y sapos), o bien por contacto directo con animales (Sánchez *et al.*, 2011).

La salmonelosis es la zoonosis más importante en los reptiles, sin embargo, también se pueden encontrar diferentes microorganismos o parásitos. Algunos de ellos son *Aeromonas* spp, *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter fetus*, *Klebsiella* spp, *Staphylococcus* spp, *Proteus* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Clostridium* spp, *Bacteroides* spp, *Pasteurella* spp. hongos como *Mucor* spp; parásitos como *Cryptosporidium* spp; y virus como el alfavirus, causante de la Encefalitis Equina del Oeste (Carriquiriborde, 2010).

Taddei *et al.* (2010) determinaron como el microbiota aeróbico conjuntival normal de las iguanas verdes en cautiverio estaba integrada por *Staphylococcus aureus*, *E. coli* y diferentes especies de *Bacillus*. Durante el examen oftalmológico, ninguna iguana verde presentó anomalías durante este estudio.

2.6.5 La iguana verde como reservorio de *Salmonella* spp.

Una gran variedad de serotipos de *Salmonella* se produce dentro de huéspedes reptiles, pero su ecología es poco conocida. Esta bacteria persiste en ecosistemas con reptiles como los escíncidos en vida silvestre, existe un reservorio ambiental en el suelo de las madrigueras utilizado por diferentes tipos de reptiles. Las especies patógenas de *Salmonella* se distribuyen a nivel mundial y afectan a los animales en el espectro taxonómico. Los resultados clínicos de las infecciones por *Salmonella* dependen de la inmunidad del huésped, la patogenicidad del serotipo de *Salmonella* y los factores estresantes ambientales; los reptiles pueden ser portadores asintomáticos, dispersando bacterias de manera intermitente (Middleton *et al.*, 2014).

Globalmente, las iguanas verdes a menudo son identificadas como reservorios de *Salmonella* spp y otros patógenos zoonóticos. Las serovariedades pueden variar de un área geográfica a otra, pueden encontrarse cepas resistentes a medicamentos en estos animales (Sylvester *et al.*, 2013).

Franco *et al* (2011), considera a las 14 serovariedades detectadas (*Salmonella enterica* subespecie: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, *S. Poona*, *S. Pomona*, *S. Abaetetuba* y *S. Newport*), como parte del microbioma intestinal normal en diferentes reptiles; ninguno de los animales muestreados expresó signos aparentes de enfermedad intestinal o sistémica.

2.6.6 Importancia de la salmonelosis en la salud pública.

La salmonelosis transmitida por reptiles mascota es un problema de salud pública cada vez mayor (Lukac *et al.*, 2015; De Jong *et al.*, 2005).

En un estudio sobre la caracterización de *Salmonella*, en una población de iguanas terrestres (*Conolophus Subcristatus*; $n=63$) en las Islas Galápagos, realizado por Franco *et al.* (2011) *Salmonella* es asociada con reptiles de vida libre y cautivos; además se han detectado altas tasas de prevalencia (62/63, 98.4%) entre especies del orden *Squamata* incluyendo *Iguanidae*. Aunque se consideran diferentes serovariedades de *Salmonella* como probables organismos comensales en reptiles; pueden ser causa de enfermedad manifiesta, especialmente en reptiles cautivos con un sistema inmunitario deteriorado. Franco *et al.* (2011), argumentan sobre la exposición humana a reptiles y su consideración como factor de riesgo significativo para las infecciones por *Salmonella* y con frecuencia se informan signos clínicos de enfermedad sistémica o intestinal. Debido a la asociación de las serovariedades *Salmonella enterica* subespecie: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, *S. Poona*, *S. Pomona*, *S. Abaetetuba* y *S. Newport* han sido asociadas con salmonelosis humana, es de considerable importancia tomar precauciones durante la captura y manejo de estos ejemplares; además *S. Poona* y *S. Newport* han sido asociadas con especies homeotérmicas domésticas y mamíferos salvajes.



Figura 9. Mesa con restos de materia fecal de iguana verde. (Ortíz, 2021).

Aunque la carne de iguana es ilegal en varios países, la iguana verde se utiliza para consumo humano en lugares como Granada, las Antillas. Es importante la prevención y el control de salmonelosis humana además de determinar su prevalencia y serovariedades son una fuente potencial de infección hacia los humanos (Sylvester *et al.*, 2013).

La *Salmonella* asociada a reptiles se reconoce como una zoonosis emergente y se asocia constantemente con una enfermedad invasiva. Ha sido reportada sobre todo en niños o personas inmunocomprometidas. Las infecciones invasivas por *Salmonella* incluyendo septicemia y meningitis se acumulan en niños muy pequeños y en huéspedes inmunodeprimidos incluyendo el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (Sauteur *et al.*, 2013).

Como factores de riesgo significativo, la exposición a reptiles mantenidos en el interior, por ejemplo, iguanas, dragones barbudos, serpientes, camaleones y geckos. La fuente potencial de *Salmonella* en estos reptiles es la contaminación

ambiental por heces de reptiles, por lo cual se ha de mostrado como *Salmonella* puede sobrevivir en el ambiente durante meses (Sauteur *et al.*, 2013).

Los reptiles infectados pueden transmitir *Salmonella* a otros animales domésticos, como perros y gatos, aumentando la exposición para los humanos (Bertelloni *et al.*, 2016).

Los veterinarios dedicados al trabajo en consultorios privados y en instituciones zoológicas pueden desempeñar un papel vital en la prevención de la salmonelosis asociada a reptiles. Los dueños de reptiles y los visitantes en parques zoológicos deben ser informados de los riesgos potenciales de mantener y manipular estos animales. Los individuos inmunocomprometidos y los niños pequeños deben evitar el contacto con reptiles. Se debe recomendar el lavado de manos después de cualquier contacto con un reptil o su recinto (Mitchel y Shane., 2001).

2.6.7 Incidencia y prevalencia de salmonelosis en reptiles.

En Nueva Zelanda, Middleton *et al.* (2010) aislaron *Salmonella* en una población de n= 100 eslizones nativos en la Isla de Stephens, con una prevalencia de 4,0%. Tres serovariedades de *Salmonella* fueron aisladas de eslizones, siendo *Salmonella* Saint Paul, *Salmonella* Typhimurium DT135 y un serovar de determinación de antígeno 4,12: -1,12. Existe relación de brotes de salmonelosis con S. Saint Paul y S. Typhimurium DT135 asociado a humanos y animales en dicha región; de igual manera Middleton *et al.* (2014) no detectaron *Salmonella* spp en excreciones intestinales de tuataras 620 en contraste con el 80% de muestras positivas a *Salmonella* spp en 275 eslizones, estas dos especies conviven de manera cercana e incluso llegan a compartir madrigueras.

En Guayana Francesa en la zona de Cayenne, Gay *et al.* (2014) recolectaron muestras 151 reptiles provenientes de diferentes ecosistemas distribuyéndose en hábitats (zoológico 34,4% (52/151), bosque 31,8% (48/151), ambiente comensal 19,9% (30/151) , enjaulado / contenido en o alrededor de viviendas humanas 13,9% (21/151), como resultado incluyeron como positivos a *Salmonella*, 8/38 (21,1%) lagartijas, 12/37 (32,4%) serpientes, 6/32 (18,8%), tortugas, 6/23 (26,1) iguanas verdes y 3/21 (14,3%) caimanes. Cultivaron muestras de hisopos cloacales identificando bioquímicamente y serotipificando 23 cepas cuyas subespecies fueron: *arizonae* (IIIa) 13 (36,1%), *enterica* (I) 17 (47,2%), *houtenae* (IV) 6 (16.7%).

En un estudio sobre aislamiento de serovariedades de *Salmonella enterica* en Croacia por Luckac *et al.* (2005), cinco de seis subespecies fueron identificadas con las siguientes proporciones en el número total de aislamientos: *Salmonella enterica* 34.6%, *Salmonella enterica houtenae* 23.1%, *Salmonella enterica arizonae* 23.1%, *Salmonella enterica diarizonae* 15.4% y *Salmonella enterica salamae* 3.8%.

2.6.8 Principales especies patógenas de *Salmonella*.

Las especies patógenas de *Salmonella* se distribuyen por el mundo, afectando a animales en un amplio aspecto taxonómico. Los resultados clínicos de las infecciones por *Salmonella* son dependientes de la inmunidad del huésped, patogenicidad de la serovariedad, así como factores ambientales estresantes; muchos animales actúan como portadores, eliminando la bacteria de manera intermitente (Pfleger *et al.* 2003).

La nomenclatura para el género *Salmonella* fue en constante evolución, lo cual conlleva a varias inconsistencias en la literatura, especialmente para subespecies de trascendencia veterinaria. El género incluye 2 especies existentes: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. Las 6 subespecies de *Salmonella enterica* (*enterica* [I], *salamae*[II], *arizonae* [IIIa], *diarizonae* [IIIb], *houtenae* [IV] e *indica* [VI]) y son clasificadas en serovariedades, las cuales se componen de un aproximado de 2,637 serovariedades existentes conocidas. Las serovariedades se determinan por medio del fenotipado de los antígenos O (somático) y H (Flagelar). Ciertos serovares se asocian a síndromes clínicos como aparición brusca de fiebre, dolor abdominal, diarrea, náusea y ocasionalmente vómitos, aunque la virulencia inherente de una serovariedad puede incrementar la propensión de una bacteria a provocar patologías, la inmunidad del huésped desempeña un papel fundamental en su patogenicidad. Los reptiles se han asociados históricamente con las serovariedades *arizonae* (IIIa) y *diarizonae* (IIIb) en algún momento se incluyeron en su propio género (*arizona*); en ocasionalmente algunos laboratorios no logran distinguir entre estas dos subespecies durante pruebas químicas (Clancy *et al.*, 2016).

Como principales serovariedades de *Salmonella* en iguanas terrestres en estudios realizados en las Islas Galápagos, se encontraron aislamientos pertenecientes a *S. enterica*, subespecie *enterica* con *S. Poona*, *S. Pomona* y *S. Abaetetuba* entre los más frecuentes. Estas serovariedades junto con *S. San Diego* y *S. Manhattan*, han sido encontrados en iguanas muestreadas en las Islas Santa Fe y Plaza Sur; *S. Poona* y *S. Pomona* han sido reportadas en otras

especies de poiquilothermos como quelonios, lagartos e iguanas, todos pertenecientes a la Orden Squamata (Franco *et al.*, 2011).

Luckac *et al.* (2005), identificaron *Salmonella enterica*, *Salmonella enterica houtenae*, *Salmonella enterica arizonae*, *Salmonella enterica diarizonae* y *Salmonella enterica salamae*, en heces de reptiles en cautiverio en Croacia. Las 14 diferentes serovariedades aisladas incluyeron varias serovariedades cuya ocurrencia es rara como *Salmonella Apapa*, *Salmonella Halle*, *Salmonella Kisarawe* y *Salmonella Potengi*. Estos hallazgos confirman que la prevalencia de *Salmonella* es considerable en reptiles cautivos en Croacia, indicando como estos animales pueden albergar serovariedades no observadas comúnmente en la práctica veterinaria o humana. Lo anterior debe ser abordado en la prevención y diagnóstico de las infecciones de transmisión de reptiles a humanos.

2.6.9 Principales reservorios de *Salmonella* spp.

Los reptiles salvajes y cautivos se consideran reservorios de numerosas zoonosis, de las cuales, la más importante es la salmonelosis (Luckac *et al.*, 2015).

A través de investigaciones de brotes de salud pública, informes de casos de patógenos zoonóticos y datos sobre el transporte de patógenos, se han identificado varias especies de mascotas las cuales presentan un mayor riesgo de enfermedades asociadas. Reptiles, anfibios, roedores, aves, etc. se han visto implicados en varios brotes de salmonelosis humana a nivel mundial con una alta proporción de casos y altas tasas de hospitalización; ocasionalmente algunos casos resultaron en muertes de infantes. Se estima como estas especies son responsables aproximadamente del 11% de los casos de salmonelosis entre personas de menos de 21 años. En un estudio el 17% de los casos de salmonelosis asociada a reptiles reportados se documentaron niños menores o iguales a un año, enfatizando el potencial para *Salmonella* asociada a reptiles transmisores fácilmente sin contacto directo con reptiles (Stull, 2015).



Figura 10. Ejemplar macho de Iguana verde en sitios de convivencia. (Ortíz,2021).

2.7 Importancia de los reptiles como reservorio de *Salmonella* spp.

El número de reptiles como mascota ha aumentado en el mundo en los últimos años. Los reptiles más populares son los quelonios, aunque también hay una gran cantidad de lagartos y serpientes mantenidos en cautiverio como mascotas (Luckac *et al.*, 2015).

Los humanos pueden adquirir salmonelosis a través de contacto directo o indirecto con heces de animales infectados; *Salmonella* se transmite comúnmente al manipular animales o equipos infectados. La infección también puede transmitirse a través de la ropa en contacto con reptiles o por mordeduras y rasguños. Las infecciones en humanos se presentan con mayor frecuencia con gastroenteritis leve, y una gran cantidad de casos probablemente se resuelven sin ser detectados. Sin embargo, pueden surgir complicaciones graves como septicemia, meningitis o artritis, especialmente en niños e individuos inmunocomprometidos (Luckac *et al.*, 2015). El transporte subclínico con desprendimiento intermitente de *Salmonella* en reptiles a través de las heces es común. Puede producirse una reinfestación constante a través de este

desprendimiento; obstaculizando el aclaramiento del patógeno. Este desprendimiento intermitente y el riesgo de reinfección complican la comprensión de la epidemiología y fisiopatología de la salmonelosis en reptiles (Clacy *et al.*, 2016).

En los Estados Unidos, se estimó como la exposición a reptiles contribuye en aproximadamente el 6% de todos los casos esporádicos de salmonelosis en humanos cada año. También se han reportado casos de infección por *Salmonella* asociada a reptiles mascota en varios países europeos. En un esfuerzo por reducir el número de infecciones asociadas a reptiles mascota en humanos, algunos países europeos han introducido un monitoreo sistémico sobre la prevalencia en reptiles cautivos (Luckac *et al.*, 2015). Se ha relacionado a la subespecie I (*enterica*), asociada principalmente con organismos de sangre caliente a menudo se encuentra en reptiles debido a su probable presencia en alimentos como roedores o vegetales crudos. En consecuencia, la exposición a los reptiles se asocia con un riesgo cuatro veces mayor de infección por *Salmonella* típica y atípica (Mughini-Gras *et al.*, 2016).

Diversos estudios de campo sugieren sobre la diversidad de *S. enterica* en las poblaciones de reptiles es dependiente de la exposición local, cercanía geográfica a poblaciones heteroespecíficas. Contrariamente, en especies de sangre caliente *S. enterica* es asociada a brotes transmitidos por alimentos, los cuales afectan áreas geográficas grandes (Launkau *et al.*, 2012).

2.8 Resistencia microbiana en cepas de *Salmonella*.

Los antimicrobianos son considerados medicamentos utilizados para la prevención y tratamiento de diferentes infecciones en seres humanos, animales y/o plantas. La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es generada cuando diferentes microorganismos proficientes de infecciones cambian en un periodo de tiempo, disminuyendo la sensibilidad a diferentes tratamientos como consecuencia de la farmacorresistencia originada por la aparición de nuevos mecanismos de resistencia (OMS, 2020).

Aunado a lo anterior, se debe tener en cuenta como la automedicación de antimicrobianos se presenta como una práctica común, por lo cual no se crea un tratamiento adecuado ya sea con respecto a la dosificación y/o tiempo. Medicamentos como los aminoglucósidos, ciprofloxacina y tetraciclinas, se encuentran entre los más auto recetados (López *et al.*, 2009).

En un estudio sobre el aislamiento de *Salmonella enterica* en heces de reptiles domésticos se llevó a cabo como parte de la investigación estudios antibacterianos *in vitro*, en el cual comentan como las cepas de dicha bacteria es importante como fuente de resistencia para diferentes bacterias y puede propiciar fracasos en terapéuticas tanto en medicina veterinaria como humana; dicho estudio se investigó la presencia de *S. enterica* en quelonios, ofidios y saurios, y fue probada la sensibilidad antimicrobiana en diferentes aislados. Se probó en 73 aislamientos de *S. enterica* 12 distintos agentes antimicrobianos por el método de difusión en disco. Se observó en la mayoría de los aislamientos mostraron resistencia a uno más antibióticos, sin embargo 19 de los aislamientos demostraron ser multirresistentes. 69 (94,52%) presentaron resistencia a la eritromicina, mientras en los 4 restantes presentaron medianamente susceptibilidad al mismo antibiótico. Por otro lado, el 35,61% de los aislamientos demostraron ser resistentes a sulfisaxol, 32,88% a gentamicina, 31,51% a amoxicilina y el 27,40% a la ampicilina. Todos los aislamientos demostraron sensibilidad al cloranfenicol con excepción de uno; mientras el 84,93% fue sensible a la enrofloxacin, el 80,82% a nitrofurantoína, el 76,71% a la trimetoprima y el 75,34% a la tetraciclina (Ebani *et al.*, 2005).

En el 2018, Castañeda y Jiménez; colectaron agua de diferentes ríos del valle de Culiacán, Sinaloa, México para evaluar si estos son reservorios en 111 cepas de *Salmonella*, clasificados en 28 serotipos no tifoideos y su resistencia a antibióticos utilizando el método de difusión en disco con un panel de 16 antibióticos, siguiendo la recomendación del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio. Como resultados se obtuvo el 50.5% (56/111) de las cepas presentaron resistencia por lo menos a un antibiótico, además el 41.1% (23/56)

de las cepas mostraron ser multirresistentes; el 87.5% de los serotipos manifestaron RA en ampicilina, neomicina y cloranfenicol. 26 patrones revelaron RA en cepas de *Salmonella*. Los serotipos *Salmonella* Oranienburg y Saintpaul demostraron una gran diversidad de patrones de RA. Estos resultados aluden sobre el riesgo en los ríos del noroeste de México funcionen como fuente de esta bacteria entre diferentes hospederos o ambiente.

Frecuentemente se han detectado bacterias resistentes en animales silvestres y el medio ambiente y puede ser considerado como un mecanismo de difusión de la resistencia a partir de los sitios de origen (Allen *et al.*, 2010).

La cercanía de instalaciones de humanos quienes utilizan antibióticos es considerada un factor influyente en el transporte de bacterias resistentes para la vida silvestre debido a ser probables portadores de bacterias resistentes (Wheeler *et al.*, 2012).

Wheeler *et al.*, (2012), detectaron aislamientos resistentes a uno o más antibióticos en tres diferentes ubicaciones de dos islas (Punta Carola y la Galapaguera en la isla de San Cristóbal e Isla Plaza Sur 5 (10.8%) de 46 aislamientos de *S. enterica* en iguana marina (*Amblyrhynchus cristatus*) mostraron un área de inhibición menor al umbral de susceptibilidad clínica, sin embargo, fue mayor al diámetro establecido para dicha resistencia (es decir, resistencia intermedia). Los aislamientos de *S. enterica*, demostraron un solo fenotipo de resistencia intermedia a la doxiciclina y a tetraciclinas.

2.9 Antecedentes directos de Salmonella en reptiles.

Hace no mucho tiempo los reptiles no eran considerados animales de compañía; sin embargo, en los últimos años se observa una mayor importación de animales exóticos predestinados a vivir en condiciones sujetas a la domesticación (Ebani *et al.*, 2005).

Los reptiles en cautiverio son identificados de manera rutinaria como reservorios de *Salmonella* spp, desafortunadamente, la información sobre la epidemiología de *Salmonella* spp en la iguana verde es reducida (Mitchell y Shane, 2001).

En 1998 se realizaron investigaciones de campo en una granja comercial de iguanas en la Costa del Sol, El Salvador donde habitaban aproximadamente 11000 hembras y 4000 machos. Se colectaron muestras de huevos en nidos para realizar exámenes microbiológicos; las muestras incluyeron alimentos, suelo, cascara de huevo secas, materia fecal, agua, insectos, lagartijas de vida libre capturadas en la granja, se sacrificaron reproductoras adultas y crías, se recolectaron muestras de sangre por punción intracardiaca en tubos estériles sin anticoagulante; también se recolectaron muestras de hígado, contenido del colon, ovario, oviducto y saco vitelino (crías). Se aislaron 190 muestras positivas a *Salmonella* spp provenientes de iguanas y su entorno; 3/20 muestras intestinales, 2/10 muestras de hígado, no hubo evidencia de *Salmonella* spp en sangre, ovario u oviducto, también 8/20 muestras intestinales resultaron positivas, además se aisló *Salmonella* de 7/16 cáscaras de huevo; por otro lado, no se detectó *Salmonella* spp en el saco vitelino antes de la eclosión. No hubo evidencia de *Salmonella* spp en las muestras ambientales, contaminación de agua o alimentos, así como tampoco se aisló de los insectos recolectados; sin embargo, el organismo fue aislado de las heces acumuladas de las lagartijas capturadas en vida libre. 19/25 *Salmonellas* spp fueron enviadas para serotipificación, identificándose 8 serotipos diferentes de *Salmonella*. 6 muestras se perdieron durante el transporte. 5/6 aislados externos de huevo se encontró 48: I-Z Arizona. Las muestras aisladas de lagartijas y suelo de nido fueron del serotipo 44: Z4, Z23. Los aislados de hígado resultaron en *Salmonella* 11: Z4, Z23. Se aislaron 3 serotipos diferentes (*S. Senftenberg*, *S. Havana* y *S. Saint-Paul*) de los intestinos de crías (Mitchell y Shane, 2000).

Por otro lado, el estudio de Wheeler *et al.* (2012), en el cual evaluaron la resistencia a antibióticos en bacterias entéricas en reptiles de las islas Galápagos; utilizaron métodos estandarizados (Corrente *et al.*, 2004; Wheeler *et al.*, 2012). Los aislamientos compatibles presuntivos *Salmonella*, se enviaron al Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios en Ames, Iowa, EE. UU. para su confirmación. El control de calidad se realizó con cada lote 25-50 aislados experimentales con el uso de *E. coli* (ATCC 252922) y *S. enterica* (Typhimurium:

ATCC 14028; Fisher Scientific, Pittsburgh, Pensilvania, EE. UU.), no se observaron rasgos específicos de disponibles para *S. enterica* (ATCC 14028). Se evaluó la base genética sobre la resistencia a la tetraciclina mediante la identificación por PCR (Reacción de la Cadena de Polimerasa) con los protocolos establecidos por Asimov y colaboradores (2004). Se realizó la extracción de ADN de los aislamientos con resistencia y de un subconjunto de aislamientos coincidentes, pero estos no presentaron resistencia a ninguno de los discos de tetraciclina. Los productos de PCR fueron visualizados por medio de electroforesis en gel de agarosa, mostrando la presencia de una banda fuerte de tamaño apropiado indicando el aislamiento positivo para el gen en cuestión. Como resultado, la prevalencia existe una variabilidad entre especies bacterianas y los tipos de huésped, con un estado moderado de *S. enterica* en iguanas marinas (68%, n=50) e iguanas terrestres (45%, n=29) pero no detectado en tortugas terrestres. Se encontró una mayor cantidad de *E. coli* en tortugas gigantes (100%, n=10), moderada en iguana terrestre (62%, n=29) y relativamente baja en iguanas marinas (26%, n=50).

Ebani *et al.*, (2005), realizaron un estudio sobre aislamiento de *Salmonella enterica* en heces de reptiles domésticos con un total de 305 muestras fecales de reptiles (165 saurios, 99 ofidios y 41 quelonios). Se aislaron 73/305 (23,93%) de *Salmonella enterica* de muestras fecales. Los resultados positivos de muestras fueron de 44 (60,27%) muestras positivas en saurios, 15 (20,55%) en quelonios y 14 (19,18) en ofidios.

Maciel (2009), realizaron estudios sobre la alta prevalencia de *Salmonella* en lagartos Tegu (*Tupinambis merianae*), colectaron heces de 30 tegus en cautiverio, las muestras se colectaron en dos ocasiones con 2 meses de diferencia con hisopos cloacales en cada individuo, Como resultado del primer análisis, 26 (87%) fueron positivos para *Salmonella enterica*. Para el segundo análisis, tras las limpiezas semanales de jaulas, 27 de los animales examinados tuvieron un resultado de 22 (81%) positivos a *Salmonella enterica*, en esta etapa 4 tegus (13%) fueron negativos en el primer muestreo tuvieron un resultado

positivo en el segundo muestreo, así como 5 animales positivos del primer muestreo, resultaron negativos en el segundo. Es importante destacar la ausencia de cambios significativos durante el periodo donde se desinfectaban las jaulas de manera continua.

Chero (2017), realizaron estudios de identificación de *Salmonella Typhimurium* en cuyes al primer parto por medio de la técnica de PCR múltiple, cuyo objetivo fue el aislamiento e identificación de serotipos presuntivos de *Salmonella* spp. Los individuos de este estudio se encontraban clínicamente sanos los cuales provenían de criadero sin registro de brote de salmonelosis desde hace 4 años. La colecta de muestra se realizó con hisopados vaginales y rectales dentro de la primera semana posparto; los hisopos se almacenaron en tubos con agua peptonada tamponada y conservados a 4°C para su transporte al laboratorio. Se evaluaron 272 muestras en par (hisopado vaginal y rectal *Salmonella* spp, se aisló de 8 (2.9%) cuyes en hisopado rectal de los cuales también 4 fueron positivos en el hisopado vaginal. Estos 12 aislamientos sometidos a PCR múltiple amplificaron gen *invA* correspondiente al género *Salmonella*, de estos, 10 aislamientos resultaron positivos a *Salmonella Typhimurium* los 2 restantes no fueron pertenecientes a la serovariedad *Typhimurium* o *Enteritidis*.

III. HIPÓTESIS

Salmonella spp está presente en el tracto digestivo de iguana verde habita en las áreas verdes utilizadas para la recreación de la población de la ciudad de Culiacán, Sinaloa; por lo tanto, las iguanas verdes son reservorio de esta bacteria.

IV. OBJETIVO GENERAL

El crecimiento de la mancha urbana invade el hábitat de la iguana verde (*Iguana iguana*) en conjunto con la construcción de parques, favorece al contacto directo e indirecto de esta especie con el humano. Sin afán de generar un mensaje erróneo con respecto a esta especie, se busca generar información adecuada sobre la misma como reservorio de *Salmonella* spp; debido a la importancia de epidemiológica de esta bacteria a nivel mundial.

Determinar la presencia de *Salmonella* spp en heces de iguana verde (*Iguana iguana*) habitantes de las áreas verdes utilizadas para la recreación de la población de la ciudad de Culiacán, Sinaloa.

4.1 Objetivos específicos

Detectar la presencia de *Salmonella* spp mediante pruebas microbiológicas en muestras de heces de iguana verde (*Iguana iguana*), habitan en las áreas verdes utilizadas para la recreación de la población de la ciudad de Culiacán, Sinaloa.

Identificar la presencia de *Salmonella* spp mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa).

Determinar la resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aislada de heces de iguana verde (*Iguana iguana*).

V. MATERIAL Y MÉTODOS.

5.1 Ubicación de las diferentes áreas de muestreo.

Cuadro 5.- La recolección de muestras se llevó a cabo en diferentes lugares de la ciudad de Culiacán, Sinaloa en donde habita la iguana verde (*Iguana iguana*).

Sitio de recolección	Ubicación
Isla de Oraba	24°48'40.8" norte, 107°24'12.8" longitud oeste.
Parque las Riberas	24°48'47.8" latitud norte, 107°23'55" longitud oeste.
Parque las Riberas Humaya	24°82'96.5" latitud norte 107°40'33" longitud oeste.
Country club	24°47'34" latitud norte y 107°25'53" longitud oeste
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia	Ubicada a 24° 46'19.7" latitud norte y 107° 21'16.2" longitud oeste
Chuparrosa enamorada	24° 81'01.7" latitud norte y 107° 45'17.0" longitud oeste

5.2 Tipo de estudio

Exploratorio, descriptivo, transversal.

5.3 Recolección de muestras

Para coleccionar las muestras de heces de iguana verde en el suelo de los parques, se siguió la metodología de FMCN, CONAFOR, USAID y USFS (2018); para ello se localizaron senderos que utilizan las personas, en los que se definieron como transectos de 100 m, con distancias de 20 m entre transecto. Sobre el transecto se ubicaron árboles, se enumeraron y de manera aleatoria se obtuvo de que árboles se realizaría la inspección; se observó si había presencia de iguanas verdes para la detección de excretas en el suelo. Las heces seleccionadas para colección cumplieron con una apariencia de un máximo de 48 h de haber sido excretadas (Wheeler *et al.*, 2012).

Utilizando guantes de látex, y abatelenguas de madera estériles, las muestras fueron recolectadas y colocadas en frascos de plástico estériles etiquetados de forma individual y conservados entre 2 a 4°C para su posterior traslado al laboratorio de bacteriología y micología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

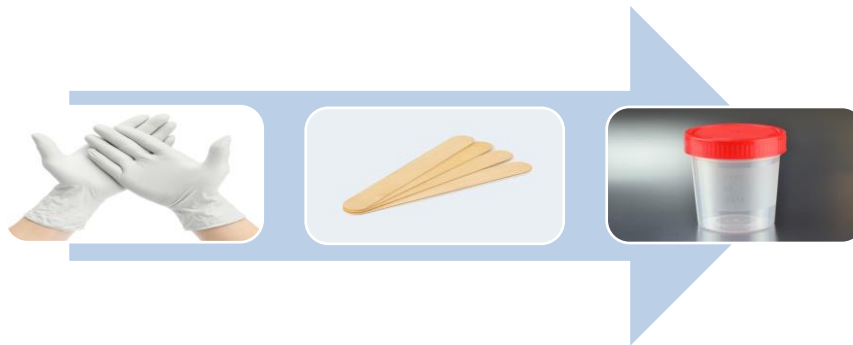


Figura 11.-Diagrama de material utilizado para la recolección de muestras. Se recolectaron 20 muestras de cada área y 9 en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

5.4 Aislamiento e identificación bacteriológica de *Salmonella* spp.

El aislamiento bacteriológico fue basado en el protocolo estandarizado por Wheeler (2011) y Corrente *et al.* (2004) efectuándose en tres diferentes etapas:

La primera etapa consistió en el pre-enriquecimiento bacteriano; para ello se homogenizaron 10 ml de agua peptonada amortiguada (BPW) por cada 3 g de la muestra de heces de iguana verde; posteriormente se incubaron a una temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 h.



Figura 12.- muestras fecales de iguana verde homogenizadas medio de pre-enriquecimiento BPW (Ortíz,2021).

La segunda etapa concierne al enriquecimiento selectivo, se colocaron 0.1 ml del cultivo preenriquecido con BPW a un tubo de ensayo con 10 ml de caldo Rappaport Vassiliadis (RV) y se incubaron a $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 h. La tercera etapa consistió en utilizar agar selectivo, tomando una alícuota de 0.01 ml de cultivo preenriquecido de caldo RV y se inoculó en agar entérico hektoen (EH) y agar xilosa, lisina, desoxicolato (XLD). El inóculo se estirió con un asa bacteriológica previamente esterilizada al fuego y posteriormente se dejó reposar durante 10 min para la absorción del inóculo en el medio, a continuación, se incubó a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 h.



Figura 13.- Enriquecimiento selectivo con caldo RV. (Ortíz,2021).

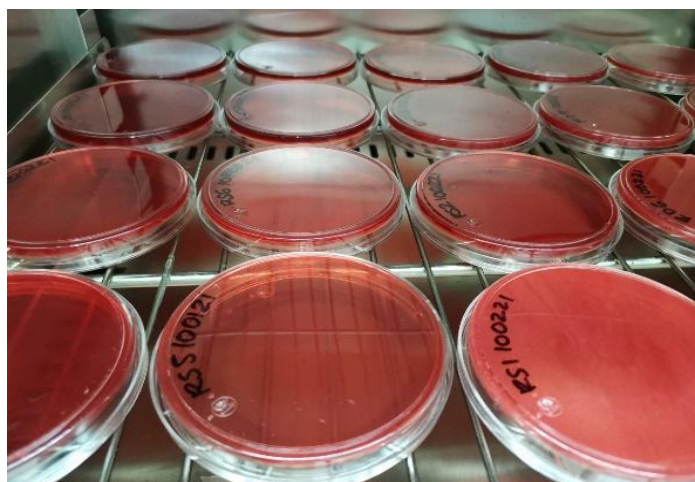


Figura 14.-Medios estriados con caldo selectivo RV en agar XLD para aislamiento y generación de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Salmonella* spp (Ortíz,2021).

Para la interpretación de resultados se tomaron en cuenta las siguientes características: En agar EH, las colonias típicas de *Salmonella* spp son de color azul o azul-verde, con o sin centro negro, pudiendo ser casi totalmente negras y brillantes. En agar XLD *Salmonella* spp al fermentar xilosa la descarboxilación de lisina generó álcalis virando las colonias a rojas con centro negro.

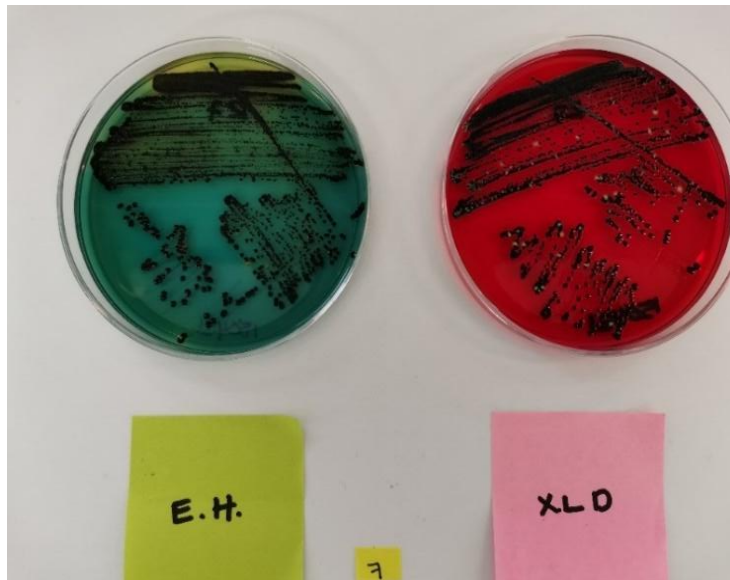


Figura 15.- Crecimiento de colonias típicas de *Salmonella* spp en agar EH y XLD. (Ortíz,2021).

5.4.1 Preparación de muestra

Aunque los microorganismos vivos pueden examinarse directamente con un microscopio óptico, a menudo se deben fijarse y teñirse para facilitar su observación, acentuar características morfológicas específicas y conservarlos para estudio futuros (Murray *et al.*, 2016).

5.4.2 Extensión de muestra

Se preparó a partir de un producto sólido empleando un asa estéril, se transfirió una pequeña cantidad del cultivo a la superficie del portaobjetos con una pequeña cantidad de agua destilada o solución salina y posteriormente se extendió con el asa (Murray *et al.*, 2016)

5.4.3 Fijación con fuente de calor

La fijación por medio de calor resguarda la morfología global, pero no las estructuras intracelulares. Se pasó varias veces la parte inferior de la preparación por la flama azul de un mechero de Bunsen evitando el sobrecalentamiento (López *et al.*, 2014).

5.4.4 Método de tinción

Después se fijó el frotis, se siguieron las instrucciones del fabricante, iniciando con la solución de cristal violeta durante un periodo de 1 min, posteriormente se retiró el exceso de colorante y se cubrió con solución de yodo Gram durante 1 min. Se lavó el exceso de colorante a continuación, se decoloró con alcohol cetona para después lavarse con agua destilada, posteriormente se aplicó safranina en un tiempo de 30 s a 1 min. Después de este periodo se lavó con agua destilada para eliminar los excesos.

Durante la observación al microscopio las muestras de colonias típicas de *Salmonella* utilizadas de los medios solidos seleccionados tomaron una coloración de rosa a rojo, por lo tanto, se consideran bacterias de tipo Gram negativas.

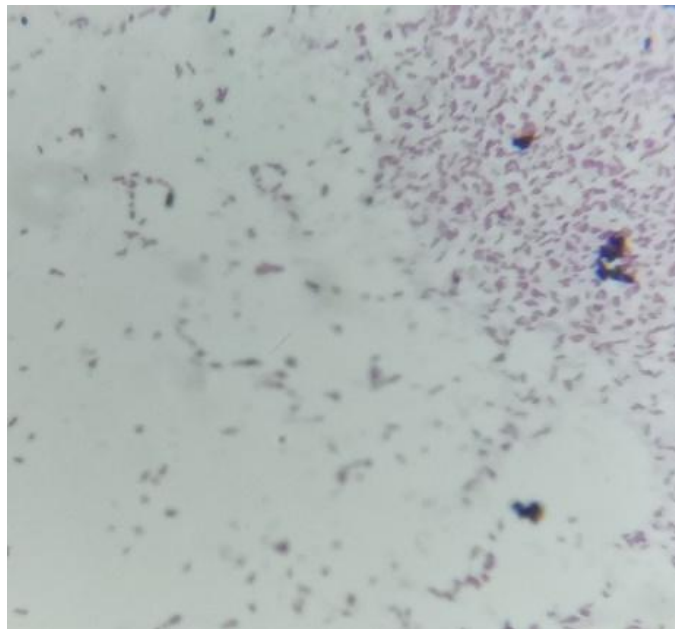


Figura 16.- Se observan bacilos con tonalidad rosa sugerente a *Salmonella* spp (Ortíz,2021).

5.5 Identificación de la bacteria *Salmonella* por medio de pruebas bioquímicas.

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias con el objetivo de identificarlas. Estas pruebas definen puntos importantes de metabolismo bacteriano como: el sustrato (contenido del medio de cultivo), la enzima o vía metabólica (secretada o en el interior del microorganismo), producto, revelado y/o indicador o cambios en el pH.



Figura 17.- Grupo de pruebas bioquímicas previas a inoculación. Se observa coloración sin viraje. En orden de izquierda a derecha se observa TSI, Citrato de Simmons, LIA. (Ortíz, 2021).

Es importante llevar a cabo estas pruebas en tiempo y forma, debido a diferentes condiciones de estrés, medios de cultivo mal formulados, tiempo de incubación o temperatura incorrecta o bacterias de metabolismo lento, pueden generar alteraciones durante la lectura y registro de resultados (McFadin, 2004).

Se inocularon colonias típicas de *Salmonella* spp en medios agar triple azúcar (TSI), agar lisina hierro (LIA) y agar citrato de Simmons e incubados a una temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por un periodo de 24 h.

El agar TSI evaluó la capacidad de la bacteria para fermentar carbohidratos como glucosa, sacarosa y/o lactosa en un medio básico, así como su capacidad de producir H_2S . Es importante distinguir como en ocasiones *S. Typhi* no produce H_2S ; el asilamiento en TSI de *S. Paratyphi* presenta una punta de flauta alcalina con fondo ácido y no producen H_2S . La mayoría de otros serotipos de *Salmonella* tienen una reacción con superficie alcalina, fondo ácido y producción de gas esto

indica la fermentación de glucosa igualmente a la producción de H₂S. El agar LIA evaluó la presencia de la enzima descarboxilasa cuya función es metabolizar lisina; la producción de gas varía según el serotipo. El citrato de Simmons comprobó el uso de citrato de sodio como única fuente de carbono (McFadin, 2004).

5.6 Identificación de resistencia bacteriológica de *Salmonella* spp de asilamientos de muestras fecales de iguana verde (*Iguana iguana*).

Se realizó la identificación bacteriana de 2 cepas seleccionadas de cada sitio (por duplicado), utilizando el método Kirby-Bauer de difusión en disco. Los antibióticos incluidos en esta prueba fueron: Amikacina (AK), Ampicilina (AM), Carbencilina (CB), Cefalotina (CF), Cefotaxima (CFX), Ciprofloxacina (CPF), Cloranfenicol (CL), Gentamicina (GE), Netilmicina (NET), Nitrofurantoína (NF), Norfloxacina (NOF) y Trimetoprim (STX), comprendidos en cada multidisco PT-35 Multibac I.D., estos antibióticos son utilizados contra bacterias Gram negativas. La metodología se inició homogenizando una UFC de *Salmonella* spp en caldo soya tripticaceína estéril, con el uso de un asa bacteriológica previamente estéril a fuego directo para después dejarse reposar por 1 h. Cuando se alcanzó la escala de McFarland de 0.5, fue necesario el uso de un espectrofotómetro para evaluar la densidad óptica con una longitud de onda de 600 nm, alcanzando 1.5×10^8 de UFC. Posteriormente se utilizó un hisopo estéril para estriar un inóculo sobre agar Müller-Hinton (MH) en la caja de Petri, manteniéndose en reposo por un periodo de 10 min para su absorción, posteriormente se colocó un multidisco PT-35 Multibac I.D. después se mantuvo en una incubadora de anaerobios por 24 h a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. La lectura se efectuó midiendo en milímetros el halo de inhibición en cada disco, obteniendo el resultado promedio de inhibición en cada tratamiento.



Figura 18.- Prueba de resistencia a antimicrobianos de cepas extraídas de *Salmonella* spp en heces de iguana verde (*Iguana iguana*). Se observan halos de resistencia con diferentes antimicrobianos.

5.7 Identificación molecular de *Salmonella* spp por medio de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa).

Para la identificación de *Salmonella* spp, fue necesario el uso de los siguientes primers: FW 5'-GTGAAATTATCGCCACGTTCTGGGCAA-3' y RV 5'-TCATCGCACCGTCAAAGGAACC-3' para amplificar una fracción del gen *InvA* a 284 pb del género *Salmonella* (Chero *et al.*, 2017; Rahn *et al.*, 1992).

Previamente las cepas caracterizadas bioquímicamente fueron sembradas en agar Enterico Hektoen y posteriormente incubadas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por un periodo de 24 ± 2 h. A continuación, se tomó de 1 a 2 UFC en 1 ml de agua peptonada amortiguada y se incubaron en anaerobiosis a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 h hasta formar sedimentación de bacterias realizando posteriormente la extracción siguiendo las instrucciones del fabricante (kit de extracción High-Speed Plasmid Mini kit IB47101). Se obtuvieron 50 μl de ADN por muestra y se almacenaron a -20°C hasta su uso. Se comprobó la correcta extracción la extracción utilizando 10 μl del producto de extracción (ADN) en gel agarosa al 1% a 90 volts, durante un

periodo de 60 min; como colorante de carga se utilizó gel de ADN (6X) Thermo Fisher Scientific ©.

Para el procedimiento de PCR se requirió el uso de un termociclador BIO-RAD T100, con un volumen de reacción de 13 µL el cual se integró de 5 µL de solución Master Mix, 1 µL de primer, 1 µL de primer 2, 3 µL de agua nano pura estéril y 3 µL de ADN.

Se realizó una fase de desnaturalización a 95°C por un periodo de 5 min, continuando con 34 ciclos de 95°C°, 60°C y 72°C durante un espacio de 1 min cada fase, además de una extensión final de 72°C por 5 min. Como control positivo se utilizó ADN de *Salmonella enterica* ATCC (American Type Culture Collection) y como control negativo agua nano pura estéril (Schatten y Eisenstark, 2015).

Para la visualización de ADN se utilizó gel de ADN (6X) Thermo Fisher Scientific © como medio de tinción en gel agarosa al 3% a 90 volts, durante un periodo de 60 min en una cámara de electroforesis (Yang *et al.*, 2001).

5.7 Análisis estadístico

Los resultados del aislamiento, extracción de ADN y prueba de PCR para *Salmonella* spp, clasificados por lugar de muestreo, se codificaron en archivo de Microsoft Excel (Microsoft Corporation, 2018), con valores de 1 = positivo (p) y 0 = negativo (1-p). Los resultados de susceptibilidad de *Salmonella* spp a los antibióticos se codificaron con las categorías de muestra resistente (R), intermedia (I) y susceptible (S). Para obtener el intervalo de confianza (IC) de las proporciones, se utilizó el criterio np y $n(1-p)$ mayores de 5 para determinar si era posible utilizar la distribución normal estándar (Z) (Daniel, 2002); debido a que no se cumplió para todas las celdas, se utilizó la distribución Binomial para el cálculo de los límites inferiores y superiores de los IC, mediante el código `binom.test` de la librería `stats` de R (Ihaka y Gentleman, 1996) versión 4.2.0 para Windows (R core team).

Los resultados se presentan en cuadros de frecuencia con valores absolutos y relativos expresados en porcentaje.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó un muestreo completamente al azar donde se obtuvieron heces mediante la observación directa recolectando 109 muestras de heces de iguana verde en total.

20 muestras del Parque la Riberas.



Figura 19. Se indican los sitios de recolección de heces de iguana verde en el parque las Riberas.

20 muestras de la isla de Oraba.

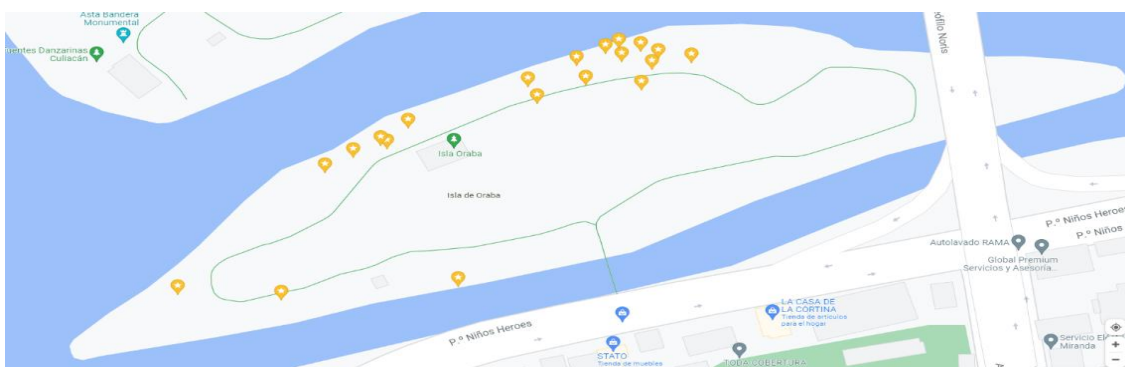


Figura 20. Se indican los sitios de recolección de heces de iguana verde en la Isla de Oraba.

20 muestras del parque Riberas del Humaya.

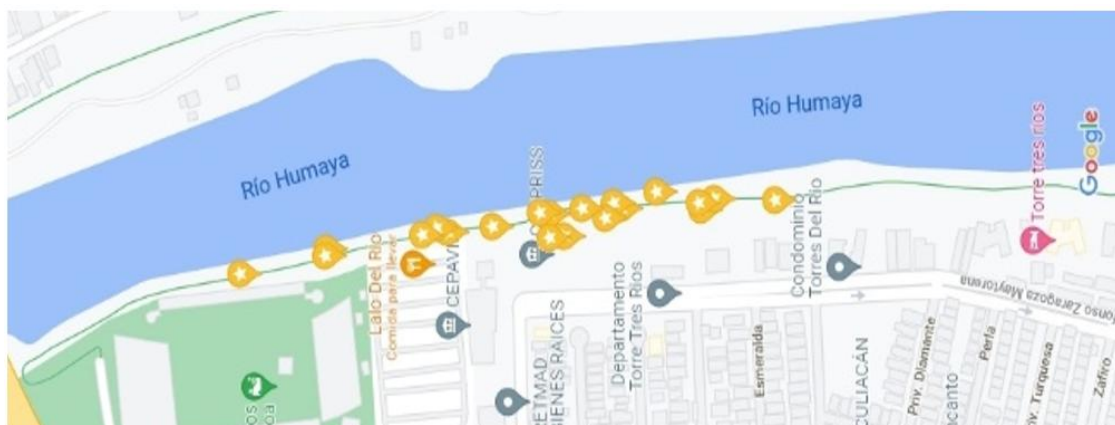


Figura 21. Se indican los sitios de recolección de heces de iguana verde en el parque Riberas del Humaya.

20 muestras del Country club de Culiacán

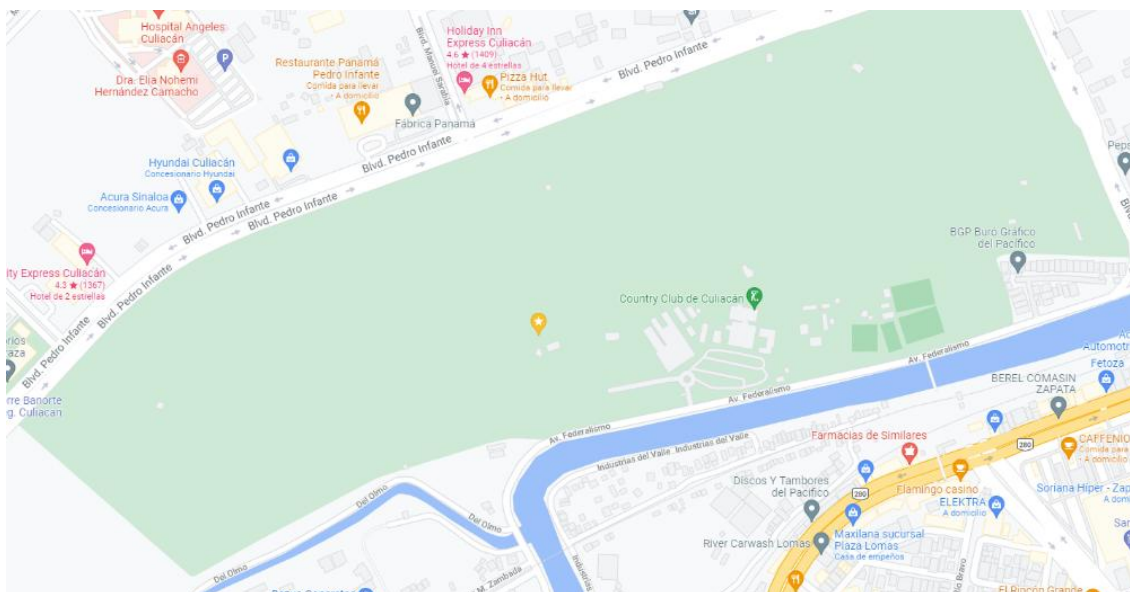


Figura 22. Se indican los sitios de recolección de heces de iguana verde en el Country club de Culiacán.

20 muestra del área Chuparrosa enamorada.

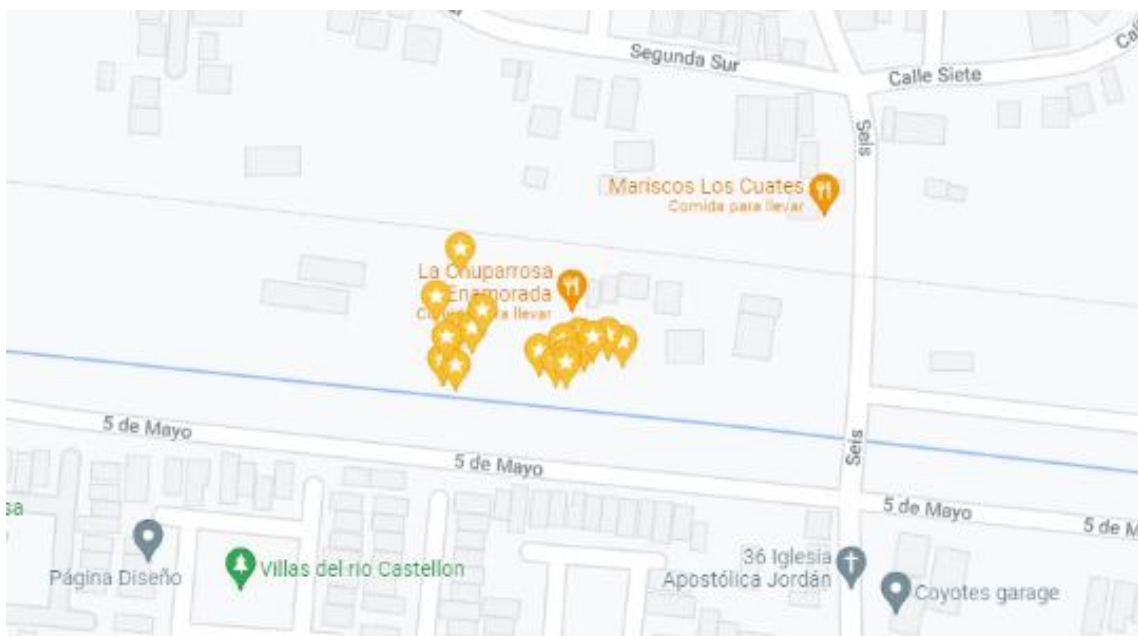


Figura 23. Se indican los sitios de recolección de heces de iguana verde en el área del Chuparrosa enamorada.

9 muestras de la Facultad de medicina veterinaria y zootecnia.

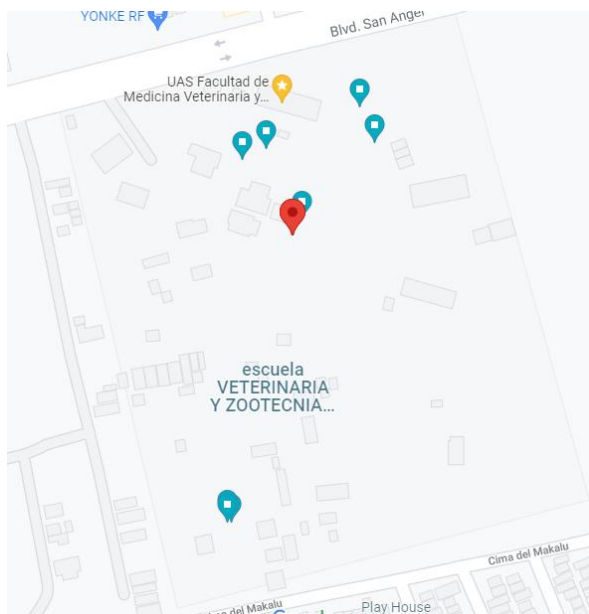


Figura 24. Se indican los sitios de recolección de heces de iguana verde en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

En total se examinaron 109 muestras de heces de iguana verde de las cuales 82 resultaron positivas a *Salmonella* spp con base en las características fenotípicas de las colonias en medios de cultivo selectivos y pruebas bioquímicas tal y como se observa en el cuadro de frecuencias 6 en el cual se describe el número de muestras, su procedencia, el número de muestras positivas y porcentaje respectivamente.

Cuadro 6.- Resultados del aislamiento de la bacteria *Salmonella* spp en muestras de heces de iguana verde en diferentes áreas de la ciudad de Culiacán Sinaloa, donde N representa el número de muestras recolectadas en cada sitio, posteriormente el número de muestras positivas de cada sitio y su porcentaje.

Procedencia de la muestra	N	Muestras positivas	%	IC 95%
Parque las Riberas	20	18	90	68.3, 98.8
Isla de Oraba	20	17	85	62.1, 96.8
Parque Riberas del Humaya	20	17	85	62.1, 96.8
Chuparrosa enamorada	20	14	70	45.7, 88.1
Country Club Culiacán	20	12	60	36.1, 80.9
FMVZ	9	4	44.44	13.7, 78.8
Total	109	82	75.22	66.0, 83.0

Durante el desarrollo de la investigación fue posible el aislamiento de la bacteria *Salmonella* en heces de iguana verde (*Iguana iguana*) en las 6 diferentes áreas seleccionadas para muestreo. La cantidad de aislamientos fenotípicos resultó relevante para el presente estudio, cuyo resultado tiene como total 82 muestras positivas, lo cual es correspondiente a una frecuencia de 75.22%, dichos resultados pueden ser comparados a un estudio realizado por Corrente *et al.* (2004), el cual consistió en aislar cepas de *Salmonella* a partir de 85 muestras de heces de reptiles, de distintas especies (serpientes, lagartos, tortugas y camaleones), estos animales se encontraban alojados en un zoológico en Roma; como resultados se obtuvieron 46 muestras positivas a *Salmonella* de 85

muestra de heces de reptiles, lo cual representa el 54.11%. Por otro lado, Lankau *et al.* (2012) Observaron en la iguana marina de las islas Galápagos, presentaron una mayor prevalencia de *S. enterica* (68%, n=50) a diferencia de las iguanas terrestres (45%, n=29); esto se atribuye a variaciones azarosas del microbiota intestinal de una especie dependiendo su ubicación o, por ejemplo, superposición con otras especies endémicas o humanos. Es importante considerar como influye la presencia de humanos en la calidad del agua y su contribución en las diferencias que presentan los distintos sitios con respecto al microbioma intestinal de las iguanas marinas. Estos resultados demuestran gran similitud con relación a la frecuencia del aislamiento de *Salmonella* en reptiles, lo cual sugiere gran importancia en salud pública ya que la mayoría de las muestras de heces de iguana verde colectadas se encuentran próximas a ríos principales de la ciudad de Culiacán, Sinaloa; los cuales tienen comunicación con aguas residuales de dicha ciudad; esto es importante, y es probablemente relacionado a la influencia de los humanos y corresponder a la presencia de *Salmonella* en el microbiota intestinal de las iguanas verdes de esta región.

En total se analizaron 69 extracciones de ADN de heces de iguana verde de las cuales 48 presentaron material genético compatible a *Salmonella* spp por medio de PCR, utilizando el siguiente primer para la amplificación de una fracción del gen *invA* FW 5'-GTGAAATTATCGCCACGTTCTGGGCAA-3' y RV 5'-TCATCGCACCGTCAAAGGAACC-3' a 284 pb del género *Salmonella* como se mencionó anteriormente. Dicho gen es tradicionalmente utilizado para la detección del género *Salmonella* en alimentos y es un factor de virulencia relacionado al proceso de invasión del epitelio intestinal (Orozco *et al.*,2016). En el cuadro de frecuencias número 7, se aprecian los sitios de recolección de muestras, el número de extracciones de material genético, las, muestras positivas resultantes en el estudio de la reacción en cadena de la polimerasa y el porcentaje resultante.

Cuadro 7.- Resultados de extracción de cepas de *Salmonella* spp y PCR.

Procedencia de la muestra	N (extracciones)	Muestras positivas (PCR)	%	IC 95%
Parque las Riberas	18	10	55.6	30.8, 78.5
Isla de Oraba	15	9	60	32.3, 83.7
Parque Riberas del Humaya	11	7	63.6	30.8, 89.1
Chuparroza enamorada	9	6	66.7	30.0, 92.6
Country Club Culiacán	12	12	100	40.0, 100
FMVZ	4	4	100	40.0, 100
Total	69	48	69.6	57.4, 80.0

En el 2014, se realizó un estudio cuyo propósito fue evaluar la incidencia de *Salmonella* en reptiles en Polonia por Piasecki *et al.*, utilizando PCR anidada de dos pasos la cual en el primer paso amplifica un gran segmento del gen de interés y como segundo paso se realiza un segundo PCR con el producto de la primer reacción y PCR multiplex, el cual permite la amplificación de varios genes durante una sola reacción con distintos primers (que requieran las mismas condiciones durante el ciclado) en 374 muestras de fecales de distintos reptiles como quelonios lagartijas y serpientes. Como resultado obtuvieron 122 de 374 muestras (32.6%) con *Salmonella* caracterizadas por PCR, encontrando 58 (38.9%) muestras de lagartos, 31 (28.7%) muestras de serpientes y 33 (28.2%) muestras en quelonios. De 122 cepas encontraron 72 cepas de *Salmonella enterica subesp. enterica*, 20 de *Salmonella salame* o *S. enterica subs. diarizonae*. Estos hallazgos demuestran como algunos reptiles pueden ser considerados como reservorio de *Salmonella*, pudiendo representar un riesgo zoonótico. Estos autores confirman en su estudio una incidencia de moderada a alta de cepas de *Salmonella* en reptiles en Polonia.

En un estudio sobre la detección de *Salmonella* realizado por Zahraei *et al* (2009), se reunieron muestras de heces de 22 roedores, 20 conejos y muestras

de hígado de 14 tortugas. Como resultados todas las muestras mostraron un perfil bioquímico de *Salmonella* y utilizando el método de la reacción de la cadena de la polimerasa con el gen *invA*. Se descubrió que los roedores y los reptiles eran portadores potenciales de *Salmonella* patógena en humanos y animales.

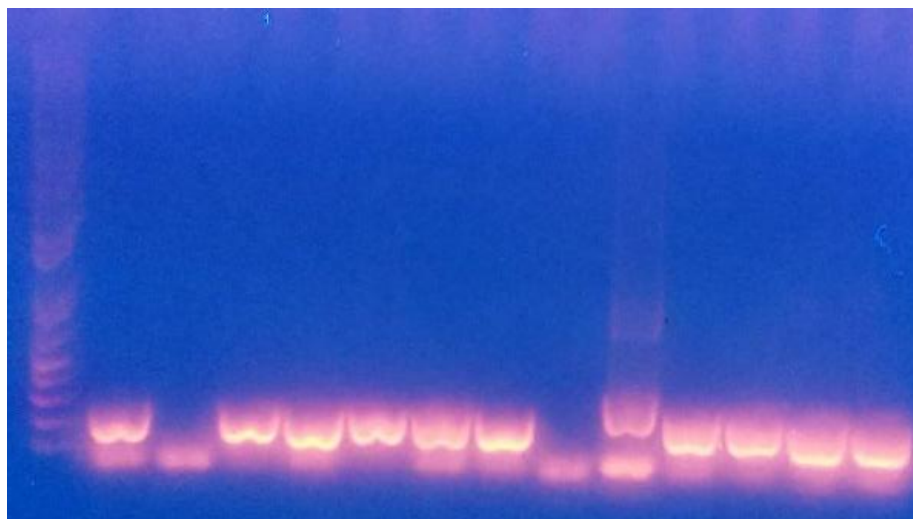
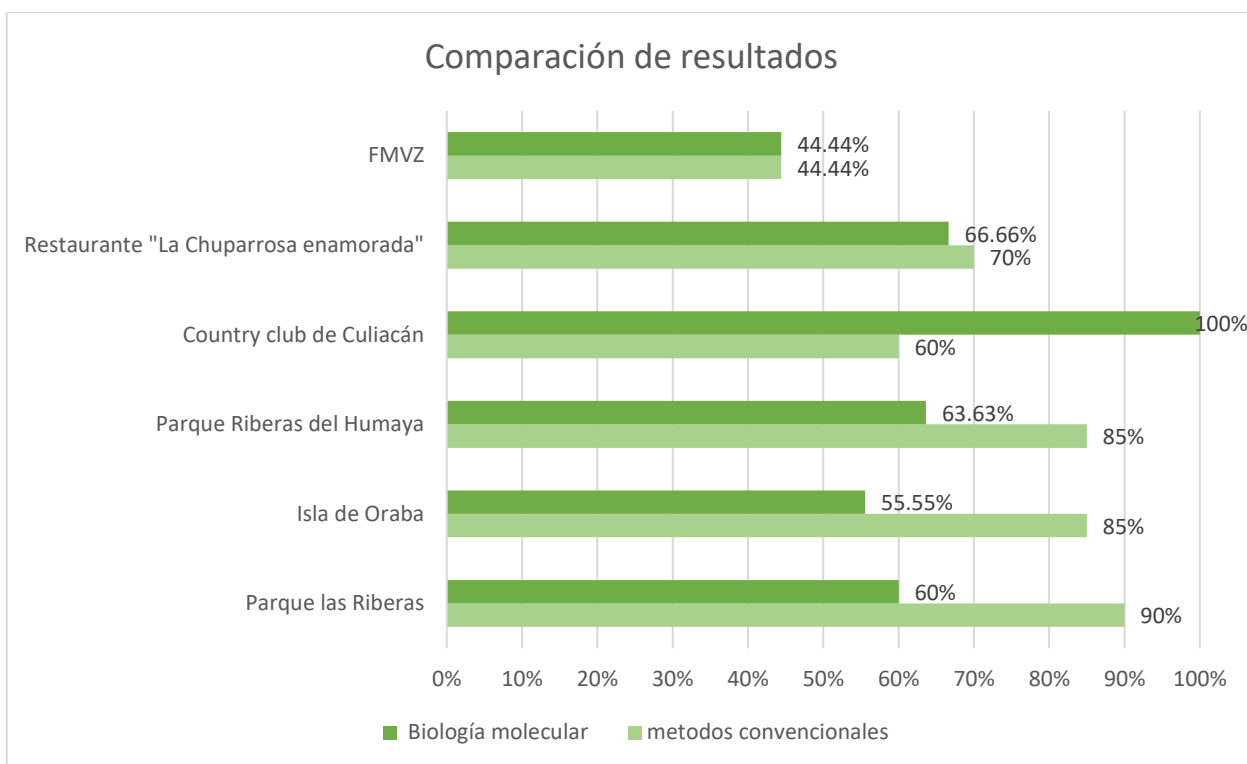


Figura 25.- En esta figura se observa la identificación de cepas de *Salmonella* spp en gel agarosa al 1% utilizando un fragmento de gen *InvA*. A continuación, se describe el contenido de cada carril.

Carril 1: Marcador molecular de 1 kb; carril 2: Control positivo (*Salmonella enteritidis* ATCC); carril 3: Control negativo (agua nano pura estéril); Carriles 4,5,6,7,8,10,11,12,13,14; cepas sospechosas aisladas de heces de iguana verde de los diferentes sitios de muestreo. Basándonos en la técnica utilizada por Zahraei *et al.*, (2009), los resultados se observan de forma similar a lo descrito en el estudio que realizaron en reptiles, conejos y roedores, donde amplificaron bandas de 284 pb utilizando como control positivo *Salmonella Typhimurium* y el gen *invA* para el método de reacción en cadena de la polimerasa. Con base en la técnica utilizada por Wheeler *et al.* (2012), los productos visualizados en la electroforesis con gel agarosa, con a la presencia de una banda fuerte y de tamaño apropiado, revela que la muestra es positiva al fragmento del gen correspondiente.



Gráfica 2.- Se observa la comparación entre estudios convencionales y de biología molecular de las diferentes cepas aisladas de heces de iguana verde.

Durante el procedimiento y evaluación de la prueba de susceptibilidad microbiana se observó como las cepas seleccionadas presentaron resistencia en su mayoría a ampicilina (AM) en un 100%, carbencilina (CB) 95.23% y nitrofurantoina (NF) 38.09%. Con un valor intermedio solo se mostraron tres distintos antibióticos como carbencilina (CB) 4.78%, nitrofurantoina (NF) 14.28%. Por otro lado, se observó mayor susceptibilidad a los antibióticos, destacando amikacina (AK) 100%, gentamicina (GE) 100% netilmicina (NET) 100%, cefalotina (CF) 100% sulfametazol-trimetropima (SXT) 100%, norfloxacin (NOF) 95.23%, cefotaxima (CFX) 95.23%, ciprofloxacina (CPF) 90.47% y nitrofurantoina (NF) 47.61% como se muestra en el cuadro 3. La multirresistencia

bacteriana muestra que las bacterias son capaces de mutar como una respuesta por el frecuente uso de estos antibióticos; asimismo se debe enfatizar en la automedicación que ocurre de manera común y carece de una dosificación correcta. Los antibióticos con mayor auto prescripción son ciprofloxacino, aminoglucósidos y tetraciclinas (Bada-Alamedji et al., 2006). Los elementos genéticos conocidos como integrones poseen la habilidad de capturar conjuntos de genes del ambiente para unirlos por medio de la recombinación en espacios específicos (Miko et al., 2005).

Estos resultados pueden ser comparables con la investigación realizada en 2005 por Ebani *et al.* En donde se observa una susceptibilidad en 52 (71.23%) de las muestras utilizando cloranfenicol y 59 (80.82%) con nitrofurantoina. También demuestra una diferencia en la efectividad de la ampicilina, por poseer un resultado favorable de 48 (65.75%) de muestras sensibles en comparación con nuestros resultados de 21 (100%) de muestras resistentes a este antibiótico; se considera necesario realizar en un futuro pruebas de antibiograma con un mayor número de cepas. En otro estudio sobre la detección y resistencia a antibióticos en *E. coli* y *Salmonella* en agua y suelo agrícola en Culiacán, Sinaloa (2009), por López *et al.* Donde cepas de *Salmonella* presentan susceptibilidad antimicrobiana a ciprofloxacina y sulfametazol-trimetoprim, dicho autor comenta como lo publicado por el Sistema de Monitoreo Nacional de Resistencia en *Salmonella* es dependiente del serotipo; esto puede explicar por qué en dicho estudio *Salmonella* es susceptible a ampicilina, en tanto el mismo antibiótico presentó resistencia en el antibiograma realizado con cepas de *Salmonella* aisladas de heces de iguana verde.

Los canales de utilizados para actividades agrícolas del Valle de Culiacán se localizan al aire libre, de manera se sugiere que la contaminación proviene de diversos orígenes ya sea por agregar agua residual en canales, descargas domésticas, y deposiciones de animales silvestres como reptiles y aves (Thurston et al., 2002).

Cuadro 8.- Resultados de antibiograma, muestra el número de muestras resistentes (R), intermedias (I) y susceptibles (S) de la bacteria *Salmonella* spp, así como sus respectivos porcentajes.

Antibiótico	Muestras <i>R</i>	%	Muestras <i>I</i>	%	Muestras <i>S</i>	%
Ampicilina (AM)	21	100	*	*	*	*
Carbencililna (CB)	19	95.23	1	4.76	1	4.76
Cefalotina (CF)	*	*	*	*	21	100
Cefotaxima (CFX)	1	4.76	*	*	20	95.23
Ciprofloxacina (CPF)	2	9.52	*	*	19	90.47
Cloranfenicol (CL)	*	*	*	*	21	100
Nitrofurantoina (NF)	8	38.09	4	14.28	10	47.61
Amikacina (AK)	*	*	*	*	21	100
Gentamicina (GE)	*	*	*	*	21	100
Netilmicina (NET)	*	*	*	*	21	100
Norfloxacina (NOF)	1	4.76	*	*	20	95.23
Sulfametazol- Trimetroprima (SXT)	*	*	*	*	21	100

VII. Conclusiones

Por medio de pruebas convencionales se confirma la presencia de *Salmonella* en heces de iguana verde en el 75.22% de las muestras recolectadas en las diferentes zonas de la ciudad donde fueron seleccionadas. Estos resultados son respaldados con las pruebas de biología molecular con un total de 69.56% y nos indican una alta frecuencia de la presencia de la bacteria *Salmonella* en las heces de iguana verde y su posible relación antropomórfica ya sea por la cercanía de diferentes cuerpos de agua contaminados, la invasión a su hábitat o la convivencia con humanos, así como su importancia en salud pública.

Las muestras evaluadas por medio de biología molecular son consideradas más certeras, sin embargo, las muestras procesadas por medios convencionales son de gran importancia, en las cuales se ven reflejadas diferentes características estructurales y morfológicas, siendo el resultado de la expresión de genes controlando enzimas.

Conclusión antibióticos

El presente estudio representa una gran oportunidad para indagar de manera más profunda en estudios futuros sobre la diversidad genética de esta bacteria en animales silvestres localizados en lugares de convivencia adoptados por la población.

Es importante recalcar la falta de información de la población en general en cuanto a los riesgos relacionados a la salmonelosis y los reptiles. Es necesaria la distribución de información de manera adecuada sin generar aberraciones en contra de la fauna y flora regional; hacer hincapié en las buenas prácticas, así como la higiene de las manos. También es importante recalcar el desconocimiento sobre si los proveedores de mascotas exóticas o no convencionales informan de las enfermedades potenciales en estas u otras especies, lo anterior es de vital importancia, aun más si los propietarios finales son niños.

El aumento de la interacción con serpientes, tortugas y lagartijas, tanto como mascotas en cautiverio como mediante la invasión de su ecosistema natural, puede resultar en un aumento en la transmisión de salmonelosis.

VIII. LITERATURA CITADA

- Allen, H. K., J. Donato, H. H. Wang, K. A. Cloud-Hansen, J. Davies, AND J. Handelsman. 2010. Call of the wild: Antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews in Microbiology* 8: 251–259.
- Bada-Alamedji R, A Fofana, M Seydi, A J Akakpom (2006) Antimicrobial Resistance of Salmonella Isolated from Poultry Carcasses in Dakar (Senegal). *Brazil. J. Microbiol.* 37:510-515.
- Barrow, P.A., Methner, U. (2013). *Salmonella in domestics animals*. 2nd edition. CAB International, Oxfordshire UK. ISBN edition : 987 1 854593 9021.
- Bertelloni, F., Chemaly, M., Cerri, D., Gall, F. L., & Ebani, V. V. (2016). *Salmonella infection in healthy pet reptiles: Bacteriological isolation and study of some pathogenic characters. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 63(2), 203–216. (“SALMONELLA INFECTION IN HEALTHY PET REPTILES: BACTERIOLOGICAL ISOLATION ...”) <http://doi:10.1556/030.63.2016.2.5>
- Bock, B., Malone, C.L., Knapp, C., Aparicio, J., Avila-Pires, T.C.S., Cacciali, P., Caicedo, J.R., Chaves, G., Cisneros-Heredia, D.F., Gutiérrez-Cárdenas, P., Lamar, W., Moravec, J., Perez, P., Porras, L.W., Rivas, G., Scott, N., Solórzano, A. & Sunyer, J. 2020. *Iguana iguana* (amended version of 2018 assessment). *The IUCN Red List of Threatened Species* 2020: e.T174481A174437922. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-2.RLTS.T174481A174437922.en>.

- B.O'Maley. 2009. *Anatomía y Fisiología Clínica de Animales Exóticos*. 1ra ed. Elsevier, Oxford, Reino Unido. ISBN edición original: 0-7020-2782-0
- Campos Z., Desbiez A.L.J., Alvarez, J.M. y Santos, S.A. (2014). Using micro-histology and image-based identification tool to study the diet of Iguana iguana (Linnaeus, 1758). ("Using micro-histology and an image-based identification tool to study ...") *Herpetozoa* 26(3/4): 200-203.
- Carriquiriborde, M., (2010). *Veterinaria Argentina*, 27(267). De: Temas de Zoonosis IV, capítulo 48. www.produccion-animal.com.ar
- Castañeda-Ruelas, Gloria Marisol, & Jiménez-Edeza, Maribel. (2018). EVALUACIÓN DE RÍOS DEL VALLE DE CULIACÁN, MÉXICO, COMO RESERVORIOS DE SEROTIPOS DE *Salmonella* RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 34(2), 191-201. <https://doi.org/10.20937/rica.2018.34.02.01>
- Chero A., Rosadio A. R., Marcelo G.M., Díaz G.O., Jiménez A.R., Castro G.Y., Maturrano H.L., 2017. Molecular identification of *Salmonella* Thyphimurium and Enteritis in Guinea Pigs at First Parturition by Multiplex PCR. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28.i3.13288>
- Clancy, M. M., Davis, M., Valitutto, M. T., Nelson, K., & Sykes, J. M. (2016). *Salmonella* infection and carriage in reptiles in a zoological collection. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 248(9), 1050–1059. <http://doi:10.2460/javma.248.9.1050>
- CENAPA, Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal. ("Catálogos de servicios y costos | Servicio Nacional de Sanidad ...") Consulta de Indicadores.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2013). Surveillance for foodborne disease outbreaks--United States, 2009-2010. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 62(3), 41–47.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC 2020) *Salmonella* infections. <https://www.cdc.gov/> (Consulta enero 2020).

Corrente, M., Madio, A., Friedrich, K. G., Greco, G., Desario, C., Tagliabue, S., ... Buonavoglia, C. (2004). Isolation of *Salmonella* strains from reptile faeces and comparison of different culture media. *Journal of Applied Microbiology*, 96(4), 709–715. <http://doi:10.1111/j.13652672.2004.02186.x>

De Jong, B., Andersson, Y., & Ekdahl, K. (2005). *Effect of Regulation and Education on Reptile-associated Salmonellosis. Emerging Infectious Diseases*, 11(3), 398–403. <http://doi:10.3201/eid1103.040694>

DGE (Dirección General de Epidemiología). (2017). Anuario de Morbilidad, 1984-2017 <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html>

Divers J.S., Stahl S. J. (2019). Meader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery, Third Edition © Elsevier Inc. ISBN 978-0-323-48253-0

Ebani, V. V., Cerri, D., Fratini, F., Meille, N., Valentini, P., & Andreani, E. (2005). ("Prevalence and characteristics of *Salmonella* species isolated from ...") *Salmonella enterica* isolates from faeces of domestic reptiles and a study of their antimicrobial in vitro sensitivity. *Research in Veterinary Science*, 78(2), 117–121. doi: 10.1016/j.rvsc.2004.08.002

Figueroa Ochoa, I. M., & Verdugo Rodríguez, A. (2005). Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp [Molecular mechanism for pathogenicity of *Salmonella* sp]. ("Biblioteca Central. UCE Koha › Detalles para: Mecanismos moleculares de ...") *Revista latinoamericana de microbiología*, 47(1-2), 25–42.

Franco, A., Hendriksen, R. S., Lorenzetti, S., Onorati, R., Gentile, G., Dell'Omo, G., Battisti, A. (2011). "Characterization of *Salmonella* Occurring at High Prevalence in a Population of the Land Iguana *Conolophus subcristatus* in Galápagos Islands, Ecuador." ("Characterization of *Salmonella* Occurring at High Prevalence in a ...") *PLoS ONE*, 6(8), e23147. <http://doi:10.1371/journal.pone.0023147>

Gay, N., Le Hello, S., Weill, F.-X., de Thoisy, B., & Berger, F. (2014). *Salmonella* serotypes in reptiles and humans, French Guiana. *Veterinary Microbiology*, 170(1-2), 167–171. doi:10.1016/j.vetmic.2014.01.024

Gonzales P.J., Pereira S.N., Soto V. Z., Hernández A. E., Villarreal C.J., Microbiological Isolation of *Salmonella* spp. And molecular tools for detection. *Salud univorte barranquilla* (Col.) 2014;30(1):73-94. <http://dx.doi.org/10.14482/sun.30.1.4316>

Gómez M.A., Suazo O.I., Alvarado D.J., (2012). Distribución, abundancia, y uso de hábitat de la Iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) y la iguana verde (*Iguana iguana*) en el municipio de Buena Vista, Michoacan, 14 (2): 67-74.

Grimont P, Weill F, *et al.*, Antigenic formulae of the salmonella serovars. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella and Institut Pasteur. ("SciELO - Scientific Electronic Library Online") 9Th. ed. 2007.

Hendriksen, R. S., Vieira, A. R., Karlsmose, S., Lo Fo Wong, D. M., Jensen, A. B., Wegener, H. C., & Aarestrup, F. M. (2011). "Global monitoring of Salmonella serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007." ("[PDF] Global monitoring of Salmonella serovar distribution from the ...") *Foodborne pathogens and disease*, 8(8), 887–900. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0787>

Hernández M.C., Vázquez L.H., (2016) Comportamiento de iguana verde (*iguana iguana*) Linnaeus, 1758 en la UMA reptilario Cipactli, Puerto Vallarta, Jalisco, México. 9(35): 620-63; ISSN 2007-2082. www.iztacala.unam.mx/biocyt

Ihaka R. y Gentleman R. 1996. R: a language for data analysis and graphics.

Jacobson R. E., Garner M. M., (2021). Pathology of reptiles color atlas and text, 2nd edition., vol I. Taylor & Francis Group. ISBN 987-0-429-155556-7

Jawertz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology., (2016), Mc Graw Hill Education 27 ed. ISBN: 978-607-15-1370-0

Journal of Computational and Graphical Statistics 5: 299–314.

Kearns, D. B. *A field guide to bacterial swarming motility. Nature Reviews Microbiology.*, (2010).8(9), 634-644. doi:10.1038/nrmicro2405

- Lan, R., Reeves, P. R., & Octavia, S. (2009). Population structure, origins and evolution of major *Salmonella enterica* clones. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 9(5), 996–1005.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.04.011>
- Lankau, E. W., Cruz Bedon, L., & Mackie, R. I. (2012). *Salmonella Strains Isolated from Galápagos Iguanas Show Spatial Structuring of Serovar and Genomic Diversity*. *PLoS ONE*, 7(5), e37302 .
- Leyequien-Abarca L., Mendoza-Martinez G.D., Clemente-Sanchez F., Gonzalez Saldivar F.; Moreno-Casasola P., Arcos-García J.L., (2019) Abundancia, caracterización y predicción de hábitat de iguana verde (*Iguana iguana* L. 1758) en la reserva de la Mancha, Veracruz, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*: 537-545.
- López Cuevas O., León Félix J., Jiménez Edeza M., y Chaidez Quiroz C. (2009). Detección y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Salmonella* en agua y suelo agrícola. *Revista Fitotecnia Mexicana*, Vol. 32 (2):119-126, 2009.
- Lukac, M., Pedersen, K., & Prukner-Radovic, E. (2015). Prevalence of *Salmonella* in Captive Reptiles from Croatia. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 46(2), 234–240. <http://doi:10.1638/2014-0098r1.1>
- Maciel, B. M., Argôlo Filho, R. C., Nogueira, S. S. C., Dias, J. C. T., & Rezende, R. P. (2009). *High Prevalence of Salmonella in Tegu Lizards (Tupinambis merrianae), and Susceptibility of the Serotypes to Antibiotics*. *Zoonoses and Public Health*, 57(7-8), e26–e32. doi:10.1111/j.1863-2378.2009.01283.x

McFaddin, J.F., *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. 3er edición. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina. ISBN: 950-06-1572-X.

Middleton DMRL, Minot EO, Gartrell BD. 2010. "Salmonella enterica serovars in lizards of New Zealand's offshore islands." ("Salmonella enterica serovars in lizards of New Zealand's offshore ...") *N Z J Ecol* 34:247–252.

Middleton, D. M. R. L., La Flamme, A. C., Gartrell, B. D., & Nelson, N. J. (2014). Reptile Reservoirs and Seasonal Variation in the Environmental Presence of Salmonella in an-Island Ecosystem, Stephens Island, New Zealand. *Journal of Wildlife Diseases*, 50(3), 655–659. <http://doi:10.7589/2013-10-277>

Miko A, K Pries, A Schroetes, R Helmuth (2005) Molecular mechanisms of resistance in multidrug-resistant ser. of Salmonella enterica isolated from foods in Germany. *J. Antimicrobial Chem.* 56:1025-1033.

Millefanti M., (2016) La Iguana, compra, cría, alimentación, reproducción, prevención y cura de las enfermedades. Editorial De Vecchi S.A.; ISBN: 978-178525-971-5.

Mitchell, M., & Shane, S.. (2000). *Preliminary findings of Salmonella spp. in captive green iguanas (Iguana iguana) and their environment. Preventive Veterinary Medicine*, 45(3-4), 297–304. doi:10.1016/s0167-5877(00)00124-0

Mitchell, M. A., & Shane, S. M. (2001). *Salmonella in reptiles. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 10(1), 25–35. <http://doi:10.1053/saep.2001.19798>

Mughini-Gras, L., Heck, M. and van Pelt, W. (2016) 'Increase in reptile-associated human salmonellosis and shift toward adulthood in the age groups at risk, the Netherlands, 1985 to 2014', *Eurosurveillance*. European Centre for Disease Control and Prevention (ECDC), 21(34).
<http://doi:10.2807/1560-7917.es.2016.21.34.30324>

Murray P. MICROBIOLOGÍA MÉDICA. 8ª ed. ELSEVIER Inc. Barcelona 2016. 836pp.

NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. [NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-059-SEMARNAT-2010 | Procuraduría Federal de Protección al Ambiente | Gobierno | gob.mx \(www.gob.mx\)](#)

Organización Mundial de la Salud (OMS) 2020. Enfoque multisectorial de la OMS <<Una salud>> <https://www.who.int> (Consulta enero 2020).

Organización Mundial de la Salud (OMS) 2020. Salmonella no tifoidea. <https://www.who.int> (Consulta enero 2020).

Organización Mundial de la Salud (OMS) 2019. Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria. <https://www.who.int> (Consulta diciembre 2019).

Orozco-Ugarriza, Mauricio & Franco-Anaya, Piedad & Olivo-Martinez, Yenifer (2016). In silico VALIDATION OF PRIMERS-SET FOR THE SPECIFIC DETECTION OF *Salmonella* spp. BY CONVENTIONAL POLYMERASE CHAIN REACTION. *Revista de Investigación Agropecuaria y Desarrollo Sostenible*. 1. 42-50.

Piasecki, T., Chrzastek, K., & Wieliczko, A. (2014). *Salmonella* serovar spectrum associated with reptiles in Poland. *Acta Veterinaria Brno*, 83(4), 287–294. doi:10.2754/avb201483040287

Pfleger, S., Benyr, G., Sommer, R., & Hassl, A. (2003). *Pattern of Salmonella excretion in amphibians and reptiles in a vivarium. International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 206(1), 53–59. doi:10.1078/1438-4639-0018

Procuraduría Federal del Medio Ambiente, 2016.
<https://www.biodiversidad.gob.mx/pdf/NOM-059-ECOL-2001.pdf>

Rahn, K., De Grandis, S. A., Clarke, R. C., McEwen, S. A., Galán, J. E., Ginocchio, C., Curtiss, R., 3rd, & Gyles, C. L. (1992). Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. *Molecular and cellular probes*, 6(4), 271–279. [https://doi.org/10.1016/0890-8508\(92\)90002-f](https://doi.org/10.1016/0890-8508(92)90002-f)

Sánchez-Vargas, F. M., Abu-El-Haija, M. A., & Gómez-Duarte, O. G. (2011). *Salmonella* infections: an update on epidemiology, management, and prevention. *Travel medicine and infectious disease*, 9(6), 263–277. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2011.11.001>

Sauteur, P. M. M., Relly, C., Hug, M., Wittenbrink, M. M., & Berger, C. (2013). *Risk Factors for Invasive Reptile-Associated Salmonellosis in Children. Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 13(6), 419–421. <http://doi:10.1089/vbz.2012.1133>

Schatten, H., & Eisenstark, A. (Eds.). (2015). *Salmonella. Methods in Molecular Biology*. doi:10.1007/978-1-4939-1625-2

SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Sanidad Agroalimentaria). Panorama Nacional de Salmonelosis, Análisis Estratégicos Sanitarios 2018-2020.

http://Sil.gob.mx/Contenido/files/2021/febrero/72PANSalmonellosis20-01-2172PANSalmonelosis20-01-21_f6c7023a-4def-419a-af63-ccb3e5df42f0_f6c7023a-4def-419a-af63-ccb3e5df42f0.pdf
(senasica.gob.mx)

Silva, G., López, H., Ortiz, V., Alpuche, C., Rendón, J., López, M. y Juárez, F. (2013). Prevalence of *Salmonella enterica* serovar Albany in captive zoo in Mexico. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 44; 8-14.

SINAVE (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica). (2016). <https://www.sinave.gob.mx>

Stanchi, O. 2007. Microbiología Veterinaria. Primera Edición. Editorial Inermedica. Buenos Aires- República Argentina.

Stull, J. W., & Stevenson, K. B. (2015). *Zoonotic Disease Risks for Immunocompromised and Other High-risk Clients and Staff. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 45(2), 377–392. <http://doi:10.1016/j.cvsm.2014.11.007>.

- Sylvester, W. R. B., Amadi, V., Pinckney, R., Macpherson, C. N. L., McKibben, J. S., Bruhl-Day, R., ... Hariharan, H. (2013). *Prevalence, Serovars and Antimicrobial Susceptibility of Salmonella spp. from Wild and Domestic Green Iguanas (Iguana iguana) in Grenada, West Indies*. *Zoonoses and Public Health*, 61(6), 436–441. <http://doi:10.1111/zph.12093>
- TACCHINI A, MARÍA DEL MAR, CARAFFINI F, ANA, MONTAMAT C, MARÍA SOLEDAD, SPITALE A, NATALIA, BOSIO D, YANINA, & MINGUEZ G, ANGEL. (2010). Empiema causado por *Salmonella typhimurium*. *Revista chilena de enfermedades respiratorias*, 26(2), 91-94. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-73482010000200004>
- Taddei, S., Dodi, P. L., Di Ianni, F., Cabassi, C. S., & Cavirani, S. (2010). *Conjunctival flora of clinically normal captive green iguanas (Iguana iguana)*. *Veterinary Record*, 167(1), 29–30. doi:10.1136/vrb4868
- Thurston E J A, P Watt, S E Down, R Enriquez, I L Pepper, C P Gerba (2002) Detection of protozoan parasites and microsporidia in irrigation waters used for crop production. *J. Food Prot.* 65:378-382.
- Uzzau, S., Brown D.J., Wallis, T., Rubino, S., León F., Benard, S., Casadesus, J., Platt, D.J. y Olsen J.E. 2000. Host adapted serotypes of *Salmonella enteric*. *Infection Control & Hospital Epidemiology*.
- Vitt, L. J. and Caldwell, J. P. (2014) 'Squamates—Part I. Lizards', *Herpetology*. Elsevier, pp. 555–596. <http://doi:10.1016/b978-0-12-386919-7.00021-6>

- Wheeler, E., Hong, P.-Y., Bedon, L. C., & Mackie, R. I. (2012). *CARRIAGE OF ANTIBIOTIC-RESISTANT ENTERIC BACTERIA VARIES AMONG SITES IN GALÁPAGOS REPTILES*. *Journal of Wildlife Diseases*, 48(1), 56–67. doi:10.7589/0090-3558-48.1.56
- Whiley, H., Gardner, M. G., & Ross, K. (2017). *A Review of Salmonella and Squamates (Lizards, Snakes and Amphisbians): Implications for Public Health*. *Pathogens*, 6(3), 38. doi:10.3390/pathogens6030038
- Yang SJ, Park KY, Seo KS. (2001). Multidrug-resistant *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* identified by multiplex PCR from animals. *Journal Veterinary Science*. 2: 181-188
- Zahraei Salehi, T., Mahzounieh, M., & Khaksar, E. (2009). *Detection of Salmonella serovars in zoo and pet reptiles, rabbits, and rodents in Iran by culture and PCR methods*. *Comparative Clinical Pathology*, 19(2), 199–202. doi:10.1007/s00580-009-0841-8
- Zaidi, M. B., López M. C., Calva, E., (2006). Estudios Mexicanos Sobre *Salmonella*: Epidemiología, Vacunas y Biología Molecular pp. 121-125.

IX ANEXOS

Anexo 1. Preparación de medios.

A 1.1 Agua peptonada amortiguada (BWP).

Utilizada como preenriquecimiento para aumentar la recuperación de *Salmonella* atenuada para su posterior aislamiento.

Utilizar 25.5gr de medio deshidratado e incorporar en 1 L de agua destilada, mezclar suave y continuamente hasta eliminar residuos o grumos; reposar a temperatura ambiente por un periodo de 10 a 15 min. Evaluar el nivel de pH (7.2 ± 0.2) con un potenciómetro limpio y previamente calibrado. Posteriormente esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min.

A 1.2 Caldo Rappaport Vassiliadis (RV).

Medio utilizado como enriquecimiento selectivo de *Salmonella*. Suspender 42.5 gr de medio deshidratado por cada litro de agua destilada, homogenizar mezclando gentil y continuamente hasta eliminar residuos o grumos; evaluar pH de 5.2 ± 0.2 . Distribuir el volumen adecuado para cada muestra de manera individual; esterilizar en autoclave a 116°C (10 libras de presión) por un periodo de 15 min. Enfriar a temperatura ambiente previo a su uso.

A 1.3 Agar Entérico Hektoen (HK).

Es un medio sólido, diferencial y selectivo para enterobacterias *Shigella* y *Salmonella*. Se encuentra compuesto por proteosa peptona, extracto de levadura, sales biliares, lactosa, sacarosa, salicina, cloruro de sodio, tiosulfato de sodio, citrato de hierro y amonio, azul de bromotimol, fucsina ácida y agar. Para su preparación se deben suspender 76 gr de medio deshidratado en 1L de agua estéril, mezclar hasta homogenizar y posteriormente dejar reposar de 10 a 15 min; evaluar pH (7.5 ± 0.2). Calentar y agitar de manera frecuente y hervir

hasta lograr diluir completamente. No esterilizar. Enfriar y distribuir en placas de Petri estériles.

A 1.4 Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD).

Es un medio diferencial y selectivo en el aislamiento de patógenos entéricos Gram negativos, especialmente del género *Shigella*. Se compone de xilosa, L-lisina, lactosa, sacarosa, cloruro de sodio, extracto de levadura, rojo fenol, desoxicolato de sodio, tiosulfato de sodio, citrato férrico de amonio y agar. Para su preparación deben suspenderse 57 gr de medio deshidratado en 1L de agua destilada, mezclar hasta homogenizar y dejar reposar de 10 a 15 min. Calentar con agitación suave y continua hasta la ebullición del medio. Se debe evitar el sobrecalentamiento debido a la generación de precipitaciones en el medio. No esterilizar en autoclave. Dejar enfriar a temperatura de aprox. 45° a 50°C para servir en placas de Petri estériles.

A 1.5 Agar Hierro Triple Azúcar (TSI).

Se emplea para diferenciar de enterobacterias, especialmente *Salmonella*. Contiene digerido pancreático de caseína, digerido péptido de tejido animal, cloruro sódico, lactosa, sacarosa, glucosa, sulfato ferroso de amonio, tiosulfato sódico, rojo fenol y agar. Para prepararse se debe rehidratar 59.4 gr en 1L de agua destilada, disolver hasta homogenizar, evaluar pH (7.3 ± 0.2), calentar para disolver el agar completamente y servir en tubos de ensayo con 4 ml del medio, cubriendo con tapa de algodón. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 10 min. Inclinar tubos para generar pico de flauta.

A 1.6 Agar Hierro y Lisina.

Disolver 29.5 gr de medio deshidratado en 1L de agua destilada, calentar agitando hasta la ebullición para homogenizar el medio en su totalidad. Medir el

valor del pH (6.9 ± 0.2), servir en tubos de ensayo con 4 ml del medio y cubrir con tapa de algodón para posteriormente esterilizar en autoclave a 121°C durante 10 min. Inclinar tubos para generar pico de flauta.

A 1.7 Agar Citrato de Simmons.

Medio selectivo y diferencial para probar la capacidad de los microorganismos los cuales utilizan el citrato como fuente de carbono única, así como los iones de amonio como fuente única de nitrógeno. Este medio es utilizado para la diferenciación de bacterias Gram negativas. Está compuesto por sulfato de magnesio, dihidrogenofosfato de amonio, citrato de sodio, cloruro de sodio, azul de bromitol.

Disolver 24.2 gr de medio deshidratado y agregar 1L de agua destilada, calentar agitando de manera continua para homogenizar, evaluar pH (6.9 ± 0.2); calentar hasta presentar ebullición en el medio, servir 4 ml en tubos de ensayo y cubrir con tapa de algodón, posteriormente esterilizar por 10 min en autoclave a 121°C durante 10 minutos. Inclinar tubos para generar pico de flauta.

A 1.8 Caldo Soya Trypticaseina (TSB).

Medio de cultivo líquido, muy nutritivo y no selectivo. Es considerado uno de los medios de cultivo más utilizados a nivel general en laboratorios dedicados a la microbiología.

Es capaz de reproducir bacterias patógenas de importancia clínica las cuales pueden ser exigentes desde el punto de vista nutricional, así como bacterias anaerobias.

Para su preparación se debe homogenizar 30 gr por cada 1000 ml de agua destilada; ya disuelto puede ser distribuido en tubos del tamaño requerido, y utilizando algodón o tapas de baquelita, debe ser esterilizado en autoclave a 121°C por 15 minutos. El pH medio debe ser de 7.3 ± 0.2 ; puede ser refrigerado de 2 a 8°C