

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA

UNAN LEÓN

Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinarias



Tesis para optar al título de Máster en Medicina Preventiva con mención en Higiene e Inocuidad Alimentaria

Tema

Detección de bacterias patógenas en la carne de garrobo (*Ctenosaura similis*) comercializada en los mercados de la ciudad de León, Nicaragua 2020.

Autor: Rosmary Ríos Bermúdez, MDV

Tutor: Byron Flores Somarriba PhD.

León 30 de noviembre de 2020

A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

UNAN LEON

Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinarias



Tesis para optar al título de Máster en Medicina Preventiva con mención en Higiene e Inocuidad Alimentaria

Tema

Detección de bacterias patógenas en la carne de garrobo (*Ctenosaura similis*) comercializada en los mercados de la ciudad de León, Nicaragua 2020.

Autor: Rosmary Ríos Bermúdez, MDV

Tutor: Byron Flores Somarriba PhD.

León 30 de noviembre del 2020

A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación (CEVEDI), por proporcionar los espacios, los equipos y el personal para los análisis de Laboratorio.

A la coordinación de la Maestría en Medicina Preventiva con mención en Higiene e Inocuidad Alimentaria, de la Escuela de Ciencias Agraria y Veterinarias, UNAN-León, por proporcionar los reactivos necesarios para los análisis de laboratorio.

A la Dra. Jessica Sheleby, a la Ingeniera Dayana Torres y la Dra. Brenda Mora por su apoyo en el laboratorio de Microbiología.

A Julio César Martínez Amaya por su apoyo durante el muestreo.

DEDICATORIA

A mis padres: **Juan Ríos Cabrera** y **Magaly Bermúdez Calderón** por su apoyo incondicional durante cada etapa de mi vida académica, y por impulsarme a seguir mis sueños sin importar las adversidades que se presenten.

A mi hija **Gema Sofía Canales Ríos**, mi mayor motivación.

RESUMEN

El garrobo (*Ctenosaura similis*) es una especie endémica de Mesoamérica, En Nicaragua ésta especie habita en varias zonas del país y la población consume su carne debido a su palatabilidad y por su alto aporte proteico, sin embargo, existe un alto riesgo microbiológico puesto que son animales de vida libre que no cuentan con planes sanitarios siendo reservorios naturales de la mayoría de los agentes patógenos. El objetivo de este estudio fue detectar bacterias patógenas en carne de garrobo (*Ctenosaura similis*) comercializada en los mercados de la ciudad de León, Nicaragua 2020. Se realizó un estudio de corte transversal, en el que se analizaron 13 especímenes por cultivo para la búsqueda de *Salmonella* y otras enterobacterias en el músculo, así como los perfiles de resistencia antimicrobiana por Kirby bauer, además se identificaron las especies de *Salmonella* y los genes de resistencia correspondientes a Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se encontró *Salmonella* spp en 8/13 muestras analizadas, la especie de *Salmonella entérica* serogrupo Enteritidis se encontró en 6/13, *Moellerella wisconsensis* fue otra enterobacteria que se aisló con mayor frecuencia con 3/13, las 8 cepas de *Salmonella* spp fueron resistentes a amoxicilina más ácido clavulánico (AMC) y cefalexina (CL), pero sensibles a ciprofloxacina (CIP), rimetoprima/sulfametoxazol (SXT), gentamicina (CN) y oxitetraciclina. El gen ^{bla}SHV se identificó en 7/8 cepas de *Salmonella* spp, el gen ^{bla}TEM se identificó en 2/8 y el gen ^{bla}CXT en 1/8. Se observó una alta frecuencia de *Salmonella* en carne de *Ctenosura similis* comercializados en los mercados de la ciudad de León. Los resultados de la identificación genética de resistencia coinciden con las características fenotípicas en las cepas de *Salmonella* spp.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| Introducción | 1 |
| Antecedentes | 3 |
| Planteamiento del problema | 5 |
| Justificación | 6 |
| Objetivos | 7 |
| Objetivo General: | 7 |
| Objetivos específicos:..... | 7 |
| REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 8 |
| Enfermedades de Transmisión alimentaria (ETA)..... | 8 |
| Generalidades | 8 |
| Reptiles..... | 9 |
| <i>Ctenosaura</i> spp..... | 10 |
| Principales bacterias patógenas en el alimento, relacionadas con el consumo de reptiles. | 11 |
| <i>Salmonella</i> spp. | 11 |
| Generalidades | 11 |
| Epidemiología..... | 11 |
| Clínica en humanos | 13 |
| Tratamiento..... | 13 |
| Prevención y Control | 14 |
| <i>Salmonella</i> asociada a los alimentos..... | 14 |
| <i>Shigella</i> spp. | 15 |
| Generalidades. | 15 |
| Epidemiología..... | 16 |
| Clínica en humanos. | 17 |
| Tratamiento..... | 18 |
| Prevención y control | 18 |
| <i>Shigella</i> asociada a los alimentos. | 19 |
| <i>Escherichia coli</i> | 20 |
| Generalidades. | 20 |
| <i>E. coli</i> O157: H7 | 20 |
| Epidemiología..... | 21 |
| Clínica en humanos | 22 |

| | |
|--|----|
| Tratamiento..... | 23 |
| Prevención y control | 24 |
| <i>E. coli</i> O157: H7 asociadas a los alimentos..... | 24 |
| <i>Salmonella, Shigella</i> y <i>E. coli</i> asociada a reptiles..... | 25 |
| Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) | 27 |
| Generalidades | 27 |
| Epidemiología..... | 27 |
| Detección de Betalactamasas de espectro extendido. | 28 |
| Métodos fenotípicos de cribado para la investigación de betalactamasas de espectro extendido. | 28 |
| Prueba confirmatoria para betalactamasas de espectro extendido..... | 29 |
| Tratamiento..... | 29 |
| Control de microorganismos productores de betalactamasas de espectro extendido..... | 29 |
| DISEÑO METODOLÓGICO..... | 31 |
| Tipo de estudio:..... | 31 |
| Población en estudio:..... | 31 |
| Área de estudio: | 31 |
| Tamaño de la muestra | 31 |
| Selección de las muestras: | 32 |
| Toma y transporte de las muestras:..... | 32 |
| Recolección de la información | 32 |
| Criterios de inclusión..... | 32 |
| Criterios de exclusión: | 32 |
| Aspectos éticos:..... | 32 |
| Análisis de laboratorio | 32 |
| Detección de enterobacterias..... | 32 |
| Identificación de <i>Salmonella</i> spp. | 32 |
| Pre-enriquecimiento | 33 |
| Enriquecimiento en medio líquido selectivo..... | 33 |
| Aislamiento diferencial..... | 33 |
| Pruebas bioquímicas | 33 |
| TSI (agar triple azúcar hierro)..... | 33 |
| LIA (agar lisina hierro) | 33 |

| | |
|---|----|
| Medio SIM (Sulfuro-indol-movilidad)..... | 34 |
| Identificación de <i>Shigella</i> spp..... | 36 |
| Medio selectivo | 36 |
| Pruebas Bioquímicas | 36 |
| TSI (Agar Triple Azúcar Hierro) | 36 |
| LIA (Agar Lisina Hierro)..... | 36 |
| Identificación de <i>Escherichia coli</i> | 38 |
| Prueba confirmatoria de <i>Escherichia coli</i> | 38 |
| Detección de <i>Salmonella</i> mediante PCR | 40 |
| Análisis estadísticos..... | 43 |
| RESULTADOS | 44 |
| DISCUSIÓN..... | 45 |
| CONCLUSIONES | 47 |
| RECOMENDACIONES | 48 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 49 |

Introducción

Nicaragua cuenta con una rica y extensa biodiversidad vegetal y animal único, en la que influye mucho su posición geográfica, como puente, en el centro de las Américas, que permite el paso de especies del norte hacia el sur y viceversa (1).

El garrobo (*Ctenosaura similis*) es una especie endémica de Mesoamérica, cuya distribución geográfica va desde México hasta Panamá, se encuentra en el bosque seco tropical y bosque húmedo tropical, desde el nivel del mar hasta 800 msnm; convirtiéndose en una de las fuentes de alimentación para las comunidades (2). En Nicaragua ésta especie habita en varias zonas del país y la población consume su carne debido a su palatabilidad y por su alto aporte proteico.

El garrobo es una especie sujeta a la caza indiscriminada debido al sabor de su carne, a creencias de que su consumo puede curar dolencias y enfermedades, y por el tráfico ilegal. Todo esto provoca el consumo masivo observándose en las carreteras de casi todo el país, vendedores ambulantes ofreciendo este reptil que al mismo tiempo los podemos encontrar en los diferentes mercados de Nicaragua en forma de canal.

El consumo de su carne sigue incrementando debido a los bajos precios en comparación al resto de carnes de origen animal (bovina, porcina, avícola y mariscos). Sin embargo, existe un alto riesgo microbiológico puesto que son animales de vida libre que no cuentan con planes sanitarios siendo reservorios naturales de la mayoría de agentes patógenos como son: virus, parásitos y bacterias; y en menor medida éstos pueden estar contaminados por metales pesados. Esto se traduce a que las personas que tienen contacto directo con estos reptiles y las que consumen su carne pueden ser afectados especialmente niños y ancianos.

Este reptil desde su piel hasta el interior de su cuerpo está colonizado por diferentes tipos de bacterias, virus y parásitos. Las bacterias de importancia patógena a la que se expone el ser humano al consumir la carne de garrobo (*Ctenosaura similis*) y que abordaremos en este estudio son: *Salmonella* spp, *E. coli* y *Shigella* spp.

Estas pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* y constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias Gram negativas. Se localizan habitualmente como saprofitas en el

tubo digestivo de muchos animales y del hombre. Al mismo tiempo las podemos encontrar de forma universal en el suelo, agua y vegetación (3).

Antecedentes

Ramos, A. M et al en el año 2017, en Puerto Rico, confirmó presencia de *Salmonella* spp en carne de pollo comercial 50.3% y en carne de iguana verde 52.5%, lo que significa que las posibilidades de ambas carnes para ser contaminadas con *Salmonella* spp. fueron similares ya que la diferencia fue solo del 2%. Durante la investigación también se documentó la presencia de *Escherichia coli* en ambos tipos de muestras (4).

En el 2011, un estudio realizado en México por Gatica Colima y López Esparza reveló que el 77.33% de las muestras de carne fresca de víbora de cascabel, fueron positivas para 11 cepas de *Salmonella*; determinando a *Salmonella enterica* spp *arizonae* en 7 cepas obtenidas de 4 muestras (5).

Un estudio realizado por Mogens Madsen en Zimbabwe 1991; donde se analizaron muestras de carne de cocodrilos del Nilo, cultivados en granjas para consumo humano en carne fresca y congelada. Se aisló *Salmonella* en 6/20 muestras de carne fresca (30%), y 28/140 muestras en carne congelada (20%). Entre los 34 aislamientos se identificaron 19 serovariedades diferentes; de estos 14/34 (41.2%) pertenecían a la subespecie *enterica*, 4/34 (11.8%) a subespecie *salumae*, y 14/34 (41.2%) para subespecie *diarizonae* (anteriormente *Arizona*) (6).

Entre 2006-2011 en Zimbabwe, se evaluó la calidad microbiológica de la carne congelada de cocodrilo del Nilo de tres granjas, basada en 2051 muestras recolectadas previas a la exportación. Donde 7.0% (143/2051), 7.2% y 5% muestras de carne de cocodrilo que excedieron los límites aceptables para Recuento de placas aeróbicas (APC), Coliformes (CC) y *E.coli*. respectivamente, mientras que *Salmonella* spp. se detectaron en 0.05% (1/2051) de las muestras de la granja A. La granja A tenía significativamente proporciones más altas ($P < 0.05$) de muestras que excedieron los límites recomendados para APC y CC en comparación con ambas granjas B y C. Todas las muestras (n=1524) analizadas mostraron resultados satisfactorios recuentos (< 20 UFC/g) para *L. monocytogenes*, mientras que solo 2.9% (60/2051) fueron clasificados como potencialmente peligrosos para los recuentos de *E. coli* (datos no mostrado) (7).

En EE. UU se realizó análisis microbiológico a la carne de lagartos de Mississippi en el año 1978. Los análisis microbianos de las superficies de las pieles arrojaron un recuento medio

de placas aeróbicas de aproximadamente 4.45 logs/cm² a 35 °C, y los recuentos totales de coliformes fueron bajos. No se recuperó *Salmonella* de las muestras de piel y tejido. Los APC de las muestras frescas fueron bajos (2.88 – 3.02 logs/g), sin recuperación de coliformes fecales o *E. coli*. El desarrollo microbiano en la carne almacenada a 1.7 °C durante 15 días fue comparable al reportado sobre la carne fresca (8).

Planteamiento del problema

Las enfermedades de transmisión alimentaria se producen por la ingesta de alimentos y bebidas contaminadas con microorganismos patógenos, que afectan la salud del consumidor de manera individual o colectiva. Siendo los síntomas más comunes diarreas y vómitos, pero también pueden cursar con choque séptico, hepatitis, fiebre, cefaleas, visión doble.

En los reptiles, las bacterias *Salmonella* spp, *E. coli* y *Shigella* spp son parte de la flora intestinal normal, por lo cual, estos animales son catalogados como portadores asintomáticos de los microorganismos. Teniendo en cuenta lo anterior es indispensable conocer el potencial riesgo zoonótico para las personas que manipulan y comercializan estos animales y por ende las que consumen su carne.

¿Cuál es la frecuencia de bacterias patógenas en la carne de garrobo (*Ctenosaura similis*) comercializada en los mercados populares de la ciudad de León, Nicaragua, 2020?

Justificación

La carne de reptil ha servido como fuente importante de obtención proteica en ciertas poblaciones del mundo. En Nicaragua las especies mayores explotadas para este fin han sido las tortugas, seguidas de los garrobos e iguanas y en menor grado los cuagipales. El consumo de carne de garrobo juega un papel importante en la salud de la población nicaragüense; especialmente en niños y ancianos, siendo ambos el grupo poblacional que debe tener mayor atención y cuidados médicos de calidad. Al ser estos reptiles, animales exóticos de vida libre están en contacto con diferentes agentes patógenos que pueden enfermar a los consumidores, o manipuladores de estas especies.

Debido a la falta de educación médica de la población, falta de disponibilidad o poco acceso a centros de salud públicos no se lleva un control de los casos que cursan con problemas digestivos (diarreas, vómitos, dolores y calambres abdominales); y que pueden estar asociados al consumo de alimentos contaminados.

“El riesgo microbiológico más evidente es la posible presencia de bacterias patógenas, como *Salmonella* spp, *Shiguelia* spp, *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter*, *Clostridium* y *Staphylococcus aureus*, que son causantes de enfermedades de diversa gravedad”. (Simone Magnino, investigador de la OMS).

Los riesgos biológicos asociados con el consumo de carne y huevo de reptiles tanto cultivados como salvajes incluyen infecciones causadas por bacterias (*Salmonella* spp, *Vibrio* spp), parásitos (*Spirometra*, *Trichinella*, *Gnathostoma*, *Pentastomidos*), así como intoxicaciones por biotoxinas. Para los cocodrilos *Salmonella* spp, constituyen un riesgo significativo para la salud pública debido a la alta tasa de portadores intestinales que se refleja en una tasa de contaminación igualmente alta en su carne fresca y congelada. Falta información sobre la presencia de *Salmonella* spp en la carne de otros reptiles comestibles, aunque los reptiles cautivos utilizados como mascotas son frecuentemente portadores de estas bacterias en Europa (9).

Debido a la poca información relacionada con el consumo o tenencia de garrobos (*Ctenosaura Similis*) es que surge la necesidad de realizar un estudio que revele la calidad microbiológica de la carne de este reptil, como un esfuerzo de contribuir al control de las enfermedades transmitidas por alimentos.

Objetivos

Objetivo General:

- Detectar bacterias patógenas en carne de garrobo (*Ctenosaura similis*) comercializada en los mercados de la ciudad de León, Nicaragua 2020.

Objetivos específicos:

- Identificar las diferentes bacterias patógenas presentes en la carne de garrobo (*Ctenosaura similis*) comercializada en los mercados de la ciudad de León, Nicaragua.
- Confirmar presencia de bacterias de importancia patógena para el humano mediante la técnica de PCR.
- Identificar el perfil de resistencia antimicrobiano en las bacterias patógenas presentes en la carne de garrobo (*Ctenosaura similis*) comercializada en los mercados de la ciudad de León, Nicaragua.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Enfermedades de Transmisión alimentaria (ETA)

Generalidades

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2001), las enfermedades transmitidas por alimentos se definen como «El conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos (p. ej., bacterias o parásitos) o no biológicos (p. ej., plaguicidas o metales pesados) en cantidades tales que afectan la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupo de personas» (10).

Un alimento para ser apto al consumo humano debe ser inocuo, es decir, que esté libre de patógenos o sustancias ajenas al alimento, que al ingerirlo no produzca ningún tipo de daño al consumidor. Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad, así como un significativo impedimento al desarrollo socioeconómico en todo el mundo (10).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define estos procesos como enfermedades que, de acuerdo con los conocimientos actuales, pueden ser atribuidas a un alimento en específico, a una sustancia que se ha incorporado, a su contaminación a través de los recipientes o bien durante su preparación y distribución (11).

Los alimentos involucrados con más frecuencia en las epidemias y casos de ETA son aquellos de origen animal. En el 48% de las epidemias ocurridas entre 1973 y 1987 en EUA, donde se identificó el vehículo, siendo los productos involucrados carne bovina, porcina, huevos, carne de aves, pescado, crustáceos, moluscos y productos lácteos (12).

En los alimentos pueden encontrarse una amplia diversidad de microorganismos, algunos son beneficiosos o necesarios para producir transformaciones que modifican favorablemente los alimentos. Existe un gran número de microorganismos patógenos, que en condiciones adecuadas, pueden multiplicarse en cantidad suficiente para provocar enfermedad (13).

La mayoría de las infecciones bacterianas transmitidas por los alimentos son ocasionadas por las bacterias *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shiguella*, *Listeria monocytogenes* y *Vibrio parahaemolyticus* (14).

Se estima que cada año enferman en el mundo unos 600 millones de personas (casi 1/10 habitantes) por ingerir alimentos contaminados y que 420 000 mueren por esta misma causa, con la consiguiente pérdida de 33 millones de años de vida ajustados en función de la discapacidad (AVAD). Las infecciones diarreicas, que son las asociadas comúnmente al consumo de alimentos contaminados, hacen enfermar cada año a unos 550 millones de personas y provocan 230 000 muertes (15).

La contaminación de los alimentos puede producirse en cualquiera de las etapas del proceso de fabricación o de distribución, aunque la responsabilidad recae principalmente en el productor. No obstante, una buena parte de las ETA son causadas por la manipulación y preparación de forma incorrecta en el hogar, establecimientos que ofrecen comida o en los mercados.

No todos los manipuladores y consumidores de alimento entienden la importancia de adoptar practicas higiénicas básicas al comprar, vender y preparar alimentos para proteger su salud y la de la población en general (15).

Reptiles

La clase Reptilia incluye numerosos taxones extintos y cuatro órdenes existentes: Crocodilia (cocodrilos, caimanes, gaviales), Testudines (tortugas, tortugas acuáticas), Squamata (lagartos, geckos, iguanas, serpientes) y Sphenodontia (tuatara), este último siendo una especie en peligro de extinción que no debe considerarse más (9).

Desde su aparición hace 310-320 millones de años, los reptiles han evolucionado convirtiéndose en uno de los grupos de animales vertebrados más adaptables y notables de la tierra. Con más de 9500 especies, se pueden encontrar en diversos nichos que van desde el árido desierto del Sahara hasta los humedales tropicales del Amazonas (16).

Han perfeccionado diversos comportamientos y fisiologías reproductivas, junto con características adaptativas como la partenogénesis y el desarrollo de glándulas de veneno para la inmovilización de presas (16).

Con respecto al consumo de una amplia variedad de especies de reptiles capturados en la naturaleza, las tortugas (carne y huevos) son probablemente las más explotadas en todo el mundo (9)

Ctenosaura spp

Las iguanas del género *Ctenosaura*, pertenecen a la familia Iguanidae. Este género incluye 17 especies reconocidas nativas del centro y sur este de México, la Península de Yucatán y Centro América. Existen iguanas desde un tamaño relativamente pequeño de 14.5 cm de largo entre el hocico y la cloaca, hasta iguanas de gran tamaño de hasta 31.5 cm y 35.3 cm (17).

La carne de iguana se consume tradicionalmente en diferentes países de América Central (Panamá, Costa Rica, Honduras, Guatemala, El Salvador y Nicaragua) y América del Sur (Colombia, Venezuela) (18).

Durante siglos han sido explotadas cuatro especies de iguana negra. Las iguanas negras jóvenes son insectívoras y carnívoras durante las primeras semanas de vida. Más tarde se transforman en herbívoras como las iguanas verdes y se alimentan de la vegetación. Las iguanas negras adultas pueden llegar a pesar hasta 3 kg (19).

Las cuatro especies de iguana se extienden desde el norte de México a lo largo de las dos costas de América Central, hasta Panamá y las islas del Caribe Colombiano. Se han adaptado a la presencia del hombre y habitan hasta en las afueras de las ciudades donde prosperan en la descarga de desechos y en los cementerios donde se alimentan de la vegetación grosera (19).

No hace más de 10 años, las iguanas negras eran transportadas hacia los mercados de América Central en caravana de camiones. Actualmente su número ha disminuido marcadamente y han desaparecido de gran parte de su área de expansión. Sin embargo, son suficientemente numerosas como para ser consideradas como la principal fuente salvaje de alimento humano en vastas zonas de América Central (19).

Principales bacterias patógenas en el alimento, relacionadas con el consumo de reptiles.

***Salmonella* spp.**

Generalidades

Los organismos del género *Salmonella* son bacilos móviles Gram Negativos aerobios, no esporulados y de longitud variable que en forma característica no fermentan la lactosa y que son patógenos para el hombre, y los animales por vía bucal. Las diferentes especies están muy relacionadas antigénicamente (20).

Este género bacteriano se divide en dos especies: *Salmonella enterica* y *bongori*. Muchos aislamientos de humanos y animales de sangre caliente se relacionan con la subespecie enterica (99%), otras subespecies de *S. enterica* y *S. bongori* se encuentran en el medio ambiente y en animales de sangre fría (siendo de especial interés los reptiles). Se estima que tienen una menor virulencia, pero estudios recientes han señalado nuevos serovares responsables de brotes (21).

Tabla 1. Especies y subespecies del género *Salmonella*.

| Especie | Subespecie |
|-----------------------------------|-------------------|
| <i>Salmonella enterica</i> | I enterica |
| | II salamae |
| | IIIa arizonae |
| | IIIb diarizonae |
| | IV houtenae |
| | VI indica |
| <i>Salmonella bongori</i> | |

Epidemiología

Los miembros del género *Salmonella* están ampliamente distribuidos en la naturaleza, se les encuentran como comensales y patógenos del tracto gastrointestinal de mamíferos domésticos y salvajes, reptiles, aves e insectos, causando diversas enfermedades en el hombre y los animales (22).

Se transmite al hombre ya sea por contacto directo o mediante productos contaminados de origen animal tales como: huevos crudos o parcialmente cocidos y sus productos, carnes y

sus derivados, aves de corral (especialmente pollo y pavo), leche cruda, productos lácteos y aguas contaminadas (22).

Otra fuente de contaminación son las mascotas (perros, gatos, caballos, pájaros, tortugas, iguanas). Siendo la transmisión de persona a persona por la vía fecal – oral; la más importante especialmente cuando existe diarrea (22).

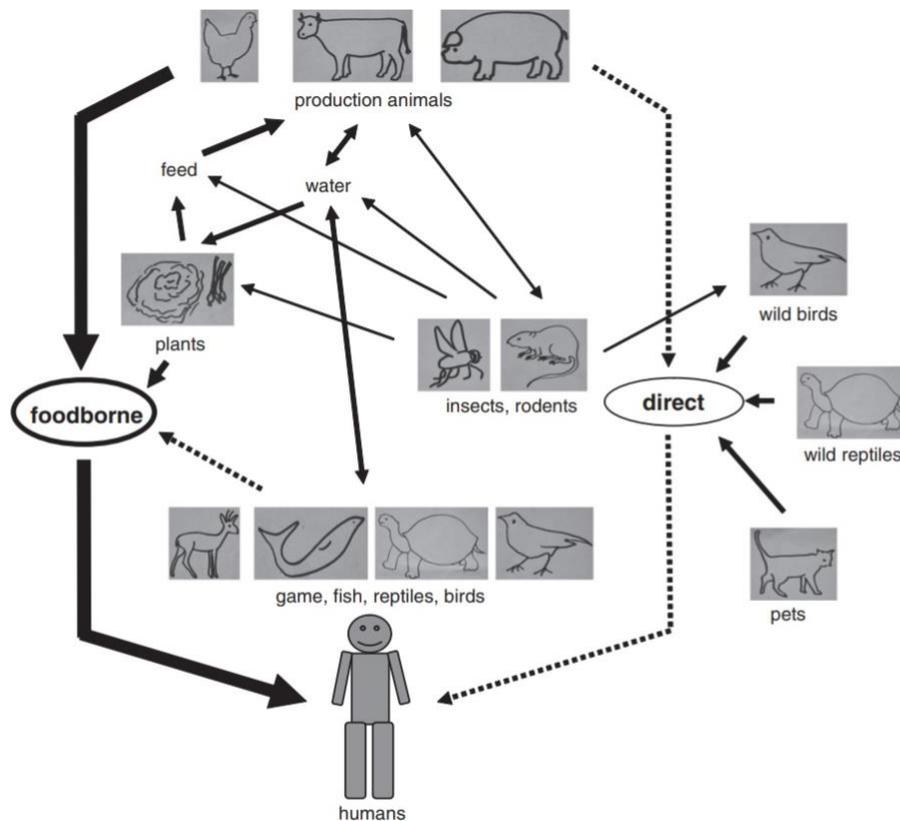


Figura 1. La Salmonelosis no tifoidea en humanos es causada principalmente por una infección transmitida por alimentos de origen animal (flechas en negrita), pero la cría de animales también juega un papel clave en el ciclo de la vida silvestre de *Salmonella*. La vida silvestre (roedores, insectos) puede infectarse por contacto cercano con animales de granja. Por lo tanto, la vida silvestre puede ser un vector para la transmisión de *Salmonella* de regreso a la cría, así como al agua y las plantas. Las aves y los reptiles pueden albergar serotipos de *Salmonella* específicos de especies, que son especialmente patógenos para humanos inmunocomprometidos (por ejemplo, niños) (23).

Clínica en humanos

Se han descrito tres formas clínicas de salmonelosis: gastroenteritis, septicemia y fiebres entéricas. La forma septicémica de la infección por *Salmonella* puede ser una etapa intermedia de infección en la que el paciente no experimenta síntomas intestinales y la bacteria no se puede aislar de las muestras fecales (24).

El periodo de incubación de la gastroenteritis por *Salmonella* (intoxicación alimentaria) depende de la dosis de bacterias ingeridas. Los síntomas generalmente comienzan a presentarse entre las 6 y 48 horas después de la ingestión de alimentos o aguas contaminadas; siendo los signos más evidentes: náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal (24).

La mialgia y el dolor de cabeza son comunes; sin embargo, la manifestación cardinal es la diarrea. Se presentan fiebres de 38°C -39°C y los escalofríos son comunes. La duración de la diarrea y fiebre varía, pero generalmente es de 2 a 7 días (24).

Las fiebres entéricas son formas sistémicas graves de salmonelosis. La fiebre entérica mejor descrita es la tifoidea, causada por *S. typhi*. Su periodo de incubación es de 10 a 14 días; se presentan síntomas inespecíficos como fiebre, anorexia, dolor de cabeza, mialgias y estreñimientos. Estas son infecciones graves siendo fatales si no se administran antibióticos de inmediato (24).

Tratamiento

El tratamiento de elección en los casos de fiebre tifoidea es ceftriaxona 1-2 g/día durante 10-14 días. En pacientes alérgicos a cefalosporinas puede administrarse azitromicina 1 g/día durante 5 días, ciprofloxacino 500 mg/12horas o cloranfenicol. En los casos graves de fiebre tifoidea se recomienda administrar esteroides durante los 2-3 primeros días como dexametasona 3mg/kg como primera dosis y luego disminuir a 1 mg/kg cada 6 horas durante 48-72 horas (25).

En pacientes con enteritis primero se hidrata al paciente por vía oral o intravenosa, y se debe considerar la administración de tratamiento con antibióticos en los sujetos con inmunodepresión de base, edades extremas de la vida o presencia de material protésico endovascular (3-7 días) (25).

Prevención y Control

La prevención exige medidas de control en todas las etapas de la cadena alimentaria, desde la producción agrícola hasta la elaboración, fabricación y preparación de alimentos, tanto en establecimientos comerciales como en los hogares (OMS).

A nivel industrial se aplican las Buenas Prácticas de Higiene y de Producción junto al sistema HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control) para mantener bajo control a los microorganismos patógenos, asegurando con esto la inocuidad de los alimentos destinados al consumo humano (26).

Las medidas preventivas para controlar la transmisión de la infección en el hogar y en establecimientos de carácter alimenticio tiene tres aspectos importantes: (27).

1. Manipulación higiénica de los alimentos, haciendo un correcto lavado de manos con frecuencia, así como también la limpieza y desinfección de superficies y utensilios.
2. Cocción a temperaturas mayores a 70°C suficientes para destruir la *Salmonella* y otras bacterias.
3. Refrigeración de los alimentos preparados tras su elaboración rápidamente.

En el hogar y criaderos de animales exóticos es necesario la supervisión de un adulto para garantizar que los niños al manipular estos animales (gatos, perros, tortugas, iguanas) que son reservorio natural de esta bacteria, no los besen o se lleven los dedos a la boca antes de lavarse las manos con jabón bactericida (28).

***Salmonella* asociada a los alimentos**

La *Salmonella* es una bacteria que frecuentemente da origen a enfermedades causadas por los alimentos, también conocidas como “intoxicaciones alimentarias”. El CDC estiman que cada año en los Estados Unidos la *Salmonella* da origen a 1 millón de casos de enfermedades causadas por los alimentos (29).

La dosis infectiva mínima de *Salmonella* spp es mayor 100 UFC/g de alimento, por lo tanto, para alcanzarla en la mayoría de los casos es necesario un periodo de multiplicación en el alimento antes del consumo (27).

Los alimentos que con más frecuencia causan salmonelosis son las carnes y productos cárnicos, carnes de aves y subproductos, huevos y ovoproductos, leche y productos

derivados de la leche. La carne de animales destinados al consumo humano como terneros, cerdos y aves considerados sanos, son portadores de *Salmonella* en una tasa que oscila entre el 20% y 30% (30).

En los últimos años, las verduras frescas a menudo se han visto implicadas en brotes de infección causados por patógenos transmitidos por los alimentos, incluida *Salmonella*. Pero hay un conocimiento incompleto sobre cómo las verduras se contaminan con la cepa del brote. Una hipótesis es que el desprendimiento fecal de *Salmonella* por parte de la vida silvestre es responsable de la propagación directa en el campo de la contaminación del agua utilizada para el riego (23).

En los brotes por *Salmonella* en los que se pudo identificar el alimento implicado, las carnes frescas y los productos cárnicos estuvieron involucrados en un 4,45% de los mismos (31).

En el 2013 en Costa Rica se confirmaron 112 aislamientos de *Salmonella* de origen no humano, de ellos 27 se aislaron de alimentos de origen animal para consumo humano, 58 de clínica veterinaria, 13 de ambiente y 14 de alimentos para animales (piensos). Los serovares que se confirmaron con mayor frecuencia fueron *S. Enteritidis* principalmente en muestras de origen aviar; *S. Typhimurium* en muestras de origen aviar y porcino principalmente, mientras que la variante monofásica de *S. Typhimurium* se encontró en muestras de origen porcino y vegetal (pimienta verde en grano importada) (32).

Adoptar medidas simples de higiene personal, como lavarse frecuentemente las manos con agua y jabón, bastan para evitar contaminar los alimentos durante su preparación. Crear conciencia en la población de los riesgos que produce una mala manipulación de los alimentos es esencial para prevenir este tipo de toxiinfección alimentaria.

***Shigella* spp.**

Generalidades.

El género *Shigella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y está compuesto por bacilos Gram Negativos, no móviles y no formadores de esporas, fue descrita por primera vez en 1897 por el médico japonés Kiyoshi Shiga como *Bacillus dysenteriae*, agente causal de disentería bacilar (22).

Las especies de *Shigella* son una de las mayores causantes de diarrea y disentería a nivel mundial. También son responsables de una significativa morbimortalidad en los países en vías de desarrollo.

El género está constituido por 4 serogrupos: *Shigella dysenteriae* (serogrupo A), que incluye 15 serotipos; *Shigella flexneri* (serogrupo B), que incluye 8 serotipos; *Shigella boydii* (serogrupo C), con 19 serotipos y *Shigella sonnei* (serogrupo D), que contiene un único serotipo y que se puede presentar de 2 formas: la forma I (lisa) y la forma II (rugosa). (33)

Tabla 2. Características de *Shigella* spp (34).

| Especies | Serogrupos | Números de serotipos | Distribución geográfica | Características distintivas |
|-----------------------------|-------------------|-----------------------------|---|--|
| <i>Shigella dysenteriae</i> | A | 15 | Subcontinente indio, África, Asia, América Central. | Causa disentería severa; alta tasa de mortalidad si no se trata; tipo 1 asociado con epidemias mortales. |
| <i>Shigella flexneri</i> | B | 8 | Comúnmente aislado en países en desarrollo. | Produce disentería menos severa que <i>S. dysenteriae</i> . |
| <i>Shigella boydii</i> | C | 19 | Predomina en el subcontinente indio, rara vez aislado en países industrializados. | Bioquímicamente idéntica a <i>S. flexneri</i> , distinguida por serología. |
| <i>Shigella sonnei</i> | D | 1 | Más común en países desarrollados. | Produce la forma más leve de shigelosis. |

Epidemiología

Los huéspedes principales de *Shigella* son los primates, incluidos los humanos; se han encontrado en diferentes fuentes, como ríos, aguas superficiales, agua potable, alimentos, leche, en animales salvajes, pájaros, insectos y amebas de vida libre. La bacteria no puede resistir fuera del huésped durante mucho tiempo (35).

La ruta fecal-oral es la principal vía de transmisión de *Shigella*. Las otras rutas de transmisión son: ingestión de alimentos o aguas contaminadas, contacto con superficies u objetos contaminados y contacto sexual. La ingestión de tan solo 10-200 microorganismos es suficiente para provocar la infección (36).

Se han reportado epidemias en regiones afectadas por la inestabilidad política y los desastres naturales, como en Asia meridional y sudoriental o en países más pobres de América Central (37).

En países en desarrollo, la tasa de incidencia es alta debido a la falta de saneamiento, la escasez de agua potable, la desnutrición y las condiciones ambientales antihigiénicas. La transmisión también se ve afectada por factores ecológicos, como la temperatura, el pH y la lluvia (35).

Se ha documentado la supervivencia del germen en superficies inanimadas por encima de 5 meses (36).

Clínica en humanos.

Las cuatro especies del género *Shigella* causan un amplio espectro de infecciones que van desde una diarrea acuosa a la disentería fulminante siendo la diarrea con sangre la señal distintiva de la infección por *Shigella* que se acompaña con fiebre, dolor abdominal agudo, tenesmo, vómitos y náuseas; a esto se le conoce como disentería (38).

El periodo de incubación varía de 1 a 7 días, pero en general es de 2 a 4 días (36). Los pacientes suelen presentar diarreas caracterizadas por el paso frecuente de pequeñas heces líquidas que contienen sangre visible con o sin moco. Los calambres abdominales y el tenesmo son comunes, la fiebre y la anorexia también son comunes, pero no son específicas (39).

Si se produce deshidratación generalmente es de grado moderado. Aunque la mayoría de los pacientes se recupera sin complicaciones dentro de los siete y diez días, pueden ocurrir complicaciones graves como: anomalías metabólicas, sepsis, convulsiones, prolapso rectal, megacolon tóxico, perforación intestinal y síndrome hemolítico urémico (39).

Tratamiento

El tratamiento empírico debe iniciarse en pacientes con fiebre muy alta y disentería cuando la infección por STEC se considera poco probable, este se administra para una posible infección con *Shigella*, *Salmonella* o *Campylobacter* (40).

El tratamiento para niños es azitromicina 10 mg/kg/día en una sola dosis durante tres días, ciprofloxacina 15 mg/kg dos veces al día durante tres días o ceftriazona 50-75 mg/kg/día una vez al día durante tres a cinco días (40).

En el tratamiento para adultos se utilizan las fluorquinolonas; o azitromicina 500 mg una vez al día, ya sea durante tres días (40).

Cuando se administra un antimicrobiano efectivo, la mejoría debe ser evidente dentro de las 48 horas. Esto incluye menos heces, menos sangre en las heces, menos fiebre y mejor apetito. Si no se muestra tal mejora, se debe sugerir una posible resistencia a los antimicrobianos (39).

Prevención y control

Shigella sigue siendo un agente etiológico importante de las enfermedades diarreicas a nivel mundial. Aunque este patógeno afecta a los humanos tanto en países desarrollados como en los de recursos limitados, las infecciones por *Shigella* a menudo se asocian con resultados más graves en los países en desarrollo (34).

La OMS elaboró en 2005 una guía completa para el control de la shigelosis, y entre las medidas de prevención se incluyen el control y saneamiento del agua de bebida, la correcta manipulación de alimentos, el uso de insecticidas para eliminar la diseminación por vectores, la promoción de la lactancia materna y la higiene personal individual y colectiva, haciendo mención especial al lavado de manos. Esta última medida es quizá la que cobra mayor relevancia en un país como el nuestro (41).

Los procedimientos para el manejo y procesamiento seguro de los alimentos deben promoverse vigorosamente. Las familias deben tener fácil acceso al jabón y se debe alentar el lavado de manos. Como medida para controlar las moscas, las calles y los lugares públicos, especialmente los mercados, deben limpiarse regularmente y el sistema de recolección de residuos debe mejorarse (39).

***Shigella* asociada a los alimentos.**

Shiguella solo puede estar presente en cantidades muy bajas dentro o en alimentos contaminados, pero esto puede ser suficiente para causar enfermedad debido a que la dosis infecciosa de *Shigella* también es muy baja (10-100 organismos (34).

Shigella puede contaminar los alimentos en todas las etapas de producción y preparación, incluyendo: durante el período de crecimiento (mediante el uso de fertilizantes humanos), en lugares públicos como mercados, durante la preparación en el hogar o en restaurantes, y cuando se mantienen sin refrigeración después de ser preparado (39).

Shigella spp crece en alimentos con bajo pH como frutas y verduras, sobrevive durante mucho tiempo en alimentos de pH neutro y a bajas temperaturas, en alimentos cerrados al vacío o bajo atmósferas modificadas y en el agua. Es sensible a las temperaturas de cocción de los alimentos, pero bajo ciertas condiciones puede sobrevivir en los alimentos por largos periodos si la temperatura se mantiene en 25°C (38).

Puede sobrevivir en la harina y leche pasteurizada hasta 170 días, en la clara del huevo por 20 días, los camarones por 150 días y en las otras por 30 días (38).

En Costa Rica, durante el año 2005 se registraron 23 brotes de diarrea, y se observó que *Shigella* y *Salmonella* fueron los patógenos con mayor incidencia durante este periodo. Para el año 2006, de 1.267 casos de ETA registrados, más de la mitad fueron causados por intoxicaciones alimentarias sin precisar su tipo; *Shigella* fue la segunda causa con una incidencia de 33,4% (423 casos), seguido de *Salmonella* con un 5,2% (66% casos) (42).

En EE. UU, en el periodo 1996-2006, *Salmonella* y *Shigella* fueron patógenos frecuentemente relacionados con ETA, asociándose los brotes de shigelosis al consumo de lechuga, perejil y cebollas y de salmonelosis a tomate, col de Brúcelas, sandía y melón (42).

En un estudio de Quetta, Pakistán, se examinaron muestras de alimentos y agua listos para el consumo en busca de *Shigella*, que mostró alrededor del 32% de *Shigella* en alimentos listos para el consumo y 22% de *Shigella* en muestras de agua. Del mismo modo, los manipuladores de alimentos a menudo transmiten patógenos y pueden ser una fuente infecciosa para los humanos (35).

Escherichia coli.

Generalidades.

Escherichia coli (*E. coli*) forma parte de la flora normal del intestino del hombre y los animales de sangre caliente, constituyendo una de las especies bacterianas más abundantes en esta localización (43); al ser parte de la flora intestinal se puede utilizar como indicador favorito para detectar y medir la contaminación fecal en la evaluación de la seguridad de los alimentos y el agua (44).

Se han descrito seis grupos de *E. coli* productoras de diarrea: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) y *E. coli* de adherencia difusa (DAEC) (45). La mayoría de las cepas de *E. coli* son inocuas y están presentes en el intestino, tienen el rol de protección contra otras bacterias y de beneficio para la salud en general; sin embargo, existen cepas dañinas para el ser humano como *E. coli* O157:H7 (14).

***E. coli* O157: H7**

E. coli productor de toxina Shiga (STEC) es un patógeno emergente asociado a enfermedades transmitidas por alimentos. El serotipo O157:H7 es el prototipo de un grupo más amplio de cepas STEC, entre los que se incluyen las cepas O26:H11, O103:H2, O111:NM, O113:H21 y O145:NM, reconocidas por la Organización Mundial de la Salud por su potencial patogénico (46).

E. coli O157:H7 se denomina así porque expresa el antígeno somático (O) número 157 identificado y el antígeno flagelar (H) séptimo. El organismo fue reconocido como patógeno humano en 1982, cuando estuvo implicado en dos brotes de colitis hemorrágica, una entidad clínica distintiva caracterizada por calambres abdominales, heces con sangre y poca o nada de presentación febril (47).

En reconocimiento a sus distintas manifestaciones clínicas, *E. coli* O157:H7 se convirtió en la primera de varias cepas denominadas *E. coli* enterohemorrágica o EHEC, que ahora se cree que representan más del 90% de todos los casos de SUH (Síndrome Urémico Hemolítico) en países industrializados (47).

Epidemiología

La enfermedad se transmite por vía fecal oral, y el vehículo más frecuente de infección humana es la carne de bovino, fundamentalmente las hamburguesas poco cocidas. Los bovinos constituyen el principal reservorio de *E. coli* O157:H7, parece que estas cepas no son patógenas para los animales (48).

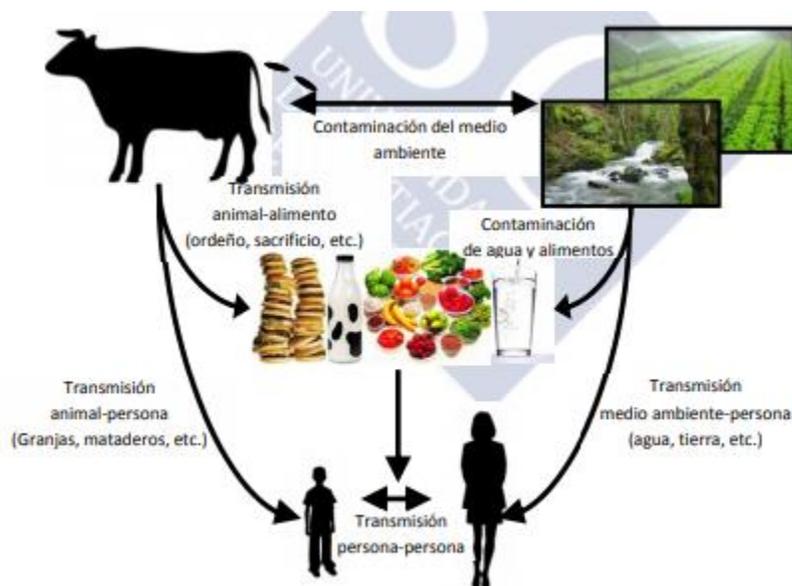


Figura 2. Diferentes tipos de transmisión de *E. coli* O157:H7

Además del ganado, el organismo se ha aislado de ciervos, ovejas, cabras, caballos, perros, aves y moscas. La mayoría de los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos se han relacionado con alimentos derivados del ganado, especialmente carne molida y leche cruda (47).

El contagio humano se produce principalmente tras el consumo de alimentos contaminados a partir de heces de animales portadores, como carne y productos cárnicos cocinados inadecuadamente, leche y productos lácteos sin pasteurizar, vegetales o agua de bebida, además de la utilización de aguas de baño contaminadas, transmisión de persona a persona y el contacto directo con animales portadores o sus heces (49).

La dosis infecciosa de *E. coli* O157:H7 es baja, un estudio reveló que tan solo diez bacterias viables pueden causar la enfermedad e los seres humanos (50).

Clínica en humanos

La infección por *E. coli* O157:H7 puede ser asintomática o puede manifestarse como diarrea no sanguinolenta, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico (SUH), trombocitopenia purpura y muerte (51). El intervalo promedio entre la exposición y la enfermedad es de 3 días; se han informado periodos de incubación tan cortos como 1 día y tan largos como 8 días (47).

Alrededor del 70% de los pacientes reportan diarreas con sangre, los vómitos ocurren del 30 al 60% de los casos y la fiebre por lo general de bajo grado, se puede documentar solo en el 30% (47).

La presentación clínica más común es la colitis hemorrágica, que se caracteriza por un cuadro grave de dolor abdominal y diarrea sanguinolenta, cursando generalmente sin fiebre y que aproximadamente en el 15% de los pacientes culmina con el desarrollo del síndrome urémico hemolítico (SUH) (49), el cual ocurre con mayor frecuencia en niños entre 1 y 5 años de edad, pero también puede presentarse en pacientes hospitalizados mayores de 60 años (51).

La fase aguda del síndrome urémico hemolítico se caracteriza por la triada que incluye anemia hemolítica, trombocitopenia y lesión renal aguda. Más del 95% de los casos se recuperan y logran salir de esta fase (51).

Secuelas graves, como la enfermedad renal en etapa terminal, o el daño neurológico permanente, ocurren aproximadamente en el 5% de los sujetos que sobreviven a la fase aguda (51).

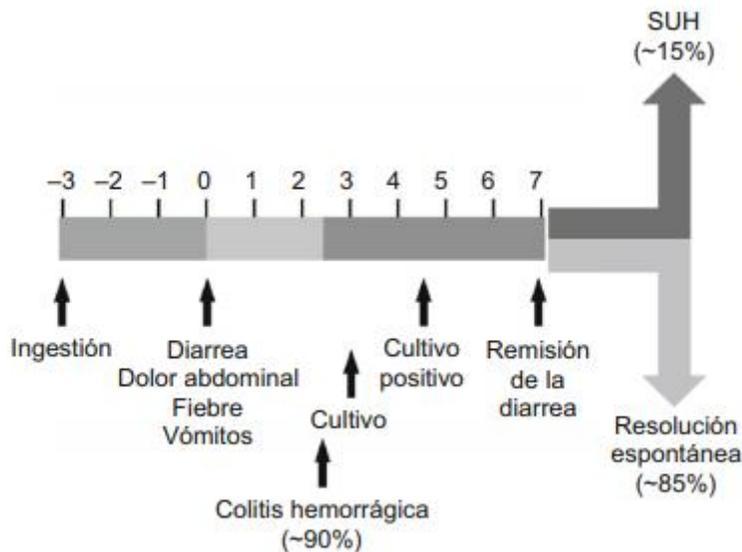


Figura 3. Desarrollo de las infecciones por *E. coli* O157:H7 en niños. Síndrome urémico hemolítico (49).

Tratamiento

El tratamiento de la colitis hemorrágica es de soporte, incluye líquidos y dieta blanda. El uso de antibióticos es controversial y, generalmente, se evita puesto que no reduce los síntomas, no previene complicaciones ni disminuye la propagación y pueden aumentar el riesgo de presentar SUH (52).

El uso de trimetoprin, quinolonas o furazolidona aumentan la producción de Shiga toxinas de *E. coli* O157: H7 in vitro presumiblemente debido a la lisis de células bacterianas y la liberación de toxinas almacenadas (51).

El manejo del SUH requiere atención meticulosa en equilibrio de líquidos y electrolitos, soporte nutricional, tratamiento de la anemia y control de la hipertensión, convulsiones y azotemia. La diálisis es necesaria en aproximadamente el 50% de los casos (47).

Los datos limitados sugieren que el anticuerpo monoclonal eculizumab puede acelerar la recuperación de *E. coli* O157: H7 HUS; los antiperistálticos como la loperamida, dicitolmina, ralentizan la motilidad intestinal aumentando el riesgo de complicaciones sistémicas. Los médicos deben evitar su utilización en este entorno (50).

Prevención y control

Según la FAO la prevención y control requiere de un enfoque interdisciplinario en la producción animal y vegetal, así como enfoques basados en riesgos a lo largo de toda la cadena alimentaria, esto incluye la aplicación de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), Buenas Prácticas de Fabricación (BPF), Buenas Prácticas de Higiene (BPH) y Análisis de Peligro y Puntos Críticos de Control (APPCC) desde la granja hasta llegar al consumidor. (53).

El consumidor final tiene la responsabilidad de aplicar una correcta higiene al momento de manipular los alimentos además respetar la temperatura a la cual sugiere mantener el alimento según la información proporcionada en la etiqueta y su debida cocción.

Los médicos pueden ayudar a prevenir las infecciones por *E. coli* O157: H7 asesorando a los pacientes sobre los peligros que conlleva el consumo de carne picada poco cocida, productos lácteos y jugos que no están pasteurizados, a su vez informar a las autoridades de salud pública cuando vean un número inusual de pacientes con diarrea sanguinolenta o SUH (47).

***E. coli* O157: H7 asociadas a los alimentos**

E. coli se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como carne picada cruda o poco cocida y leche cruda. La contaminación fecal del agua y de otros alimentos, así como la contaminación cruzada durante la preparación de estos también es causa de infección.

La contaminación de la carne generalmente se produce durante el faenado de los animales, como resultado de malas prácticas de faenado (eliminación de la piel y derrames de intestinos), higiene de los mataderos y manipulación de los animales.

Según información proporcionada por la FAO los alimentos que mayormente están implicados en brotes por *E. coli* O157: H7 son hamburguesas poco cocidas, salami curado, sidra fresca no pasteurizada, yogurt y queso elaborado con leche cruda. Los brotes también se han asociado al consumo de frutas y verduras como coles de Brúcelas, espinacas,

verduras, lechugas, ensaladas de col y de otro tipo contaminadas por las heces de animales domésticos o salvajes en algún momento durante su cultivo o manipulación.

Muchos brotes epidemiológicos se han registrado en Estados Unidos, Canadá e Inglaterra. En Estados Unidos son las frutas y hortalizas frescas el principal vehículo asociado a *E. coli* O157: H7, y representan el 34% de todos los brotes de origen alimentario (54).

En diciembre del 2019 se reportó un brote en 27 estados de E.E.U.U en el cual estuvo implicada la lechuga romana, afectando a 167 personas. El producto implicado en el brote fue identificado y seguidamente retirado del mercado (55).

Nicaragua entre 2004 y 2005 registró 67 rechazos de lotes de exportación de productos lácteos, principalmente por contaminación con materia fecal. En el país para el período de 2008 – 2012 se registraron 2666 motivos de consulta por intoxicación alimentaria de origen bacteriano no específico con un promedio anual de 533 motivos de consulta, ocurriendo en la ciudad de Managua un 30%, Chinandega 20% y Rivas 17%. (Organización Panamericana de la Salud).

La deficiencia más recurrente de las personas que manipulan los alimentos es el incorrecto lavado de manos, por otra parte, la eficacia de muchos desinfectantes para destruir microorganismos ha sido cuestionada en los últimos años por lo que su uso no es sinónimo de una práctica segura (54).

***Salmonella*, *Shigella* y *E. coli* asociada a reptiles.**

Salmonella spp, parece ser un componente esencialmente normal de la flora intestinal de los reptiles; 90% o más de los reptiles son portadores de *Salmonella*, a veces de cepas que son altamente invasivas y virulentas en el hombre. Debido a que la colonización de *Salmonella* nunca se puede descartar con confianza, la opinión habitual es que todos los reptiles deben considerarse portadores (28).

Varios serotipos de *Salmonella* asociados a los reptiles (RRS), que incluyen *S. java*, *S. Stanley*, *S. marina*, *S. poona* y *S. Pomona*, ningún serotipo es específico de reptil, aunque la subespecie III (antes *S. Arizona*) es más común en serpientes, y la subespecie IV (*S. marina*) es más común en iguanas, lagartos. Se pueden aislar varias especies diferentes de

un solo reptil, pero las otras cepas comúnmente asociadas con Salmonelosis en el hombre notablemente *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis* son encontradas raramente (28).

Se han informado prevalencias superiores al 50% del transporte intestinal de *Salmonella* en reptiles asintomáticos, aunque la ocurrencia de *Salmonella* en reptiles mantenidos como macotas (principalmente iguanas, tortugas, serpientes) ha sido bien documentada en los Estados Unidos (CDC, 1992; CDC, 1992b; CDC, 2003; CDC, 2007) y en varios países europeos, se dispone de información limitada sobre la presencia de *Salmonella* en reptiles que no sean cocodrilos criados para la producción de carne para consumo humano (18).

Los estudios sobre *Salmonella* en cocodrilos son pocos, pero informan constantemente la aparición muy común de una gran cantidad de serotipos en cocodrilos criados clínicamente sanos, así como en cocodrilos salvajes (Manolis et al., 1991; Obwolo y Zwart, 1993; van der Walt et al., 1997; Madsen et al., 1998). Las tasas de prevalencia del transporte intestinal de *Salmonella* se han reportado dentro del rango de 16-27%, y los serotipos identificados cubren un amplio rango dentro de las subespecies *enterica* de *S. enterica*, *salamae*, *arizonae* y *diarizonae* (18).

Las salmonelas son muy estables fuera del huésped y han demostrado ser viables después de 89 días en agua de grifo y 30 meses en heces de reptiles. La materia fecal u otra materia infectada puede dispersarse rápidamente sobre el cuerpo de un reptil; así cualquier área superficial del animal debe considerarse como potencialmente contaminante (28).

Salmonella se considera el peligro bacteriano más relevante que puede ocurrir en la carne de reptil (18).

E. coli es a menudo un comensal en animales y forma parte de la microbiota intestinal normal, y puede causar una variedad de enfermedades que incluyen disentería síndrome urémico hemorrágico, infección de vejiga y riñón, septicemia, neumonía y meningitis tanto en humanos como animales (56).

Algunos informes también han demostrado el transporte de *E. coli* por reptiles y un estudio describió el grupo filogenético B1 como el más común en estos animales (57).

Existe poca información acerca de la relación entre ambas bacterias (*E. coli* y *Shigella*) y su interacción con reptiles específicamente la especie *Ctenosaura similis* o garrobo negro.

Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

Generalidades

Las betalactamasas son enzimas bacterianas codificadas en cromosomas o en plásmidos que protegen a los microorganismos de los efectos letales de los antibióticos betalactámicos hidrolizando el anillo betalactámico, siendo este el mecanismo más importante de resistencia a estos antibióticos, especialmente en bacterias gramnegativas (58). Se caracterizan por ser inhibidas por el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam (59).

En 1983 se descubre en Alemania la primera enzima capaz de hidrolizar las cefalosporinas de más amplio espectro (SHV-2), un año después en Francia se descubrió una TEM -3 con fenotipo semejante. En 1989 se detectó un aislado clínico de *E. coli* con una enzima diferente a TEM y SHV, que se denominó CTX-M-1 por su actividad hidrolítica preferente por la cefotaxima (59).

Epidemiología

Klebsiella pneumoniae y *Escherichia coli* son las enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) de mayor prevalencia, ambas se comportan de manera diferenciada.

K. pneumoniae productora de BLEE se disemina de forma epidémica, en áreas de riesgo, habitualmente es clonal y los factores de riesgo están muy relacionados con la comorbilidad del paciente, manipulaciones diagnósticas o terapéuticas y el uso de antibióticos (60).

E. coli productora de BLEE se distribuye esporádicamente, suele ser policlonal, y la comorbilidad de los pacientes, presencia de catéter urinario y antibióticos previos específicamente oximino-betalactámicos y fluorquinolonas, son los factores relacionados con la adquisición de esas cepas (60).

Los estudios de vigilancia epidemiológica realizados mundialmente evidencian la importante dispersión de las enterobacterias productoras de BLEE, su magnitud lo ha

convertido en un problema de salud, su codificación plasmídica favorece su diseminación entre cepas de la misma especie e incluso de diferentes especies (61).

Se reconocen como vectores y reservorio la colonización de las manos del personal de salud, termómetros, geles de ultrasonografía, catéter de oxigenación, jabón (62).

Detección de Betalactamasas de espectro extendido.

La mayoría de los métodos descritos para detectar microorganismos productores de BLEE se han diseñado para *E. coli* y *Klebsiella*, y se fundamentan en la inhibición de estas enzimas por el ácido clavulánico y otros inhibidores de betalactamasas (59).

Los métodos de detección de BLEE se dividen en dos grupos; métodos fenotípicos que usan técnicas no moleculares y detectan la capacidad de las enzimas BLEE de hidrolizar diferentes cefalosporinas y métodos genotípicos que utilizan técnicas moleculares para detectar los genes responsables de la producción de dichas BLEE (58).

Métodos fenotípicos de cribado para la investigación de betalactamasas de espectro extendido.

Se propone una prueba inicial, mediante microdilución en caldo o mediante difusión en agar con discos, para evaluar la sensibilidad a más de uno de los antibióticos como cefpodoxima, ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona y aztreonam. Una disminución en la sensibilidad de uno o más de los antimicrobianos puede indicar la presencia de una BLEE (59).

Se consideran sospechosas las cepas con una concentración mínima inhibitoria (CMI) $\geq 2\mu\text{g/ml}$ para los antibióticos antes mencionados en cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* y *P. mirabilis* (59).

En el método de difusión en agar con discos, la sospecha deberá establecerse cuando se registren diámetros de inhibición para cefpodoxima ≤ 17 mm, ceftazidima ≤ 22 mm, aztreonam ≤ 27 mm, cefotaxima ≤ 27 mm y ceftriaxona ≤ 25 mm en *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*, y diámetros para cefpodoxima ≤ 22 mm, ceftazidima ≤ 22 mm y cefotaxima ≤ 27 mm en el caso de *P. mirabilis*. Se recomienda usar las cepas control *E. coli* ATCC 25922 no productora de BLEE y *K. pneumoniae* ATCC 700603 productora de BLEE (59).

Los métodos fenotípicos son ampliamente utilizados debido a que son más sencillos y posiblemente más coste – efectivos y son cruciales para un adecuado tratamiento de los pacientes (58).

Prueba confirmatoria para betalactamasas de espectro extendido.

La prueba fenotípica de confirmación preconizada por el Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) explora la sensibilidad a cefotaxima y ceftazidima con/sin ácido clavulánico mediante difusión agar con discos de cefotaxima (30 µg), ceftazidima (30 µg) y otros con los mismos antibióticos adicionados de ácido clavulánico (10 µg). Se confirma presencia de BLEE cuando la sensibilidad a cualquiera de los dos antibióticos en presencia del ácido clavulánico aumenta más de 5 mm de diámetro de inhibición o produce una reducción de más de 3 diluciones en la CMI (59).

La detección mediante técnicas genotípicas aporta información esencial de cara a la prevención y control de enfermedades infecciosas. Esta técnica es compleja y se complica aún más debido al incremento en el número de subtipos en cada familia de BLEE; por ello se limita a laboratorios de referencia y en el contexto de estudios de seguimiento molecular (58).

Tratamiento

La habilidad para tratar con éxito las infecciones producidas por microorganismos resistentes requiere de un enfoque multifactorial combinado con investigación continua y desarrollo de nuevos antibacterianos, el uso prudente de los antimicrobianos existentes, manteniendo el énfasis en las medidas de control de infecciones (62).

El tratamiento de elección en infecciones graves por bacterias Gran Negativas productoras de BLEE son los carbapenémicos, se debe evitar su uso indiscriminado debido a que constituyen casi la única alternativa terapéutica eficaz frente a este tipo de microorganismos (58).

Control de microorganismos productores de betalactamasas de espectro extendido.

Las medidas de control en la diseminación de cepas productoras de BLEE se basan en tres puntos fundamentales.

- Vigilancia microbiológica basándose en la interpretación del fenotipo de resistencia de la cepa con el fin de detectar los mecanismos de resistencia, realizar detección de BLEE mediante procedimientos de cribado y confirmación, de esta manera transmitir la información al clínico para el manejo terapéutico y al equipo de control de infección por su implicación epidemiológica.
- Mantener vigilancia epidemiológica activa prestando especial atención a las unidades de cuidados intensivos y aplicando medidas preventivas de contacto durante la asistencia del paciente.
- Política de antibióticos, debido a la relación entre el incremento del consumo de oximino-betalactámicos y la aparición de cepas productoras de BLEE, la restricción o reducción de ese grupo de antibióticos es una medida recomendada en el control de microorganismos productores de BLEE (60).

DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio:

Estudio descriptivo de corte transversal.

Población en estudio:

La carne de Garrobo (*Ctenosaura similis*) de los diferentes mercados del occidente de Nicaragua.

Área de estudio:

Nicaragua es el país más grande de Centroamérica, con 130,000 km², tiene dos grandes lagos, el Cocibolca y Xolotlán, que miden 8,264 y 1,094 km² de extensión respectivamente, y decenas de lagunas y ríos que convierten a este país en uno de los más ricos en recursos hídricos de América Latina. A su vez está surcado en la zona del pacífico por una cadena volcánica muy activa.

El departamento de León tiene una extensión territorial de 5.138,03 km² y una población que supera los 374.000 habitantes siendo uno de los más densamente poblados. Está ubicado al occidente del país y es uno de los departamentos más productivos.

Los mercados en Nicaragua han significado no solamente construcciones materiales con fines comerciales, sino también sitios de referencia cultural, porque son puntos de concentración de la población. Estos centros han sido útiles, para satisfacer las demandas de productos básicos y además son el lugar de las principales estaciones de buses interurbanos y locales. En la actualidad, algunos de los mercados han mejorado su infraestructura la mayoría consta de paredes de concreto y techos de lámina de zinc, abastecimiento de agua potable y servicio de aguas negras o pilas sépticas. Aunque aún se pueden observar charcos de agua sucia en los pasillos y la carencia de Buenas Prácticas Higiénico Sanitarias (BPHS) por parte de los manipuladores de productos.

Tamaño de la muestra

La muestra utilizada para este estudio fue de 13 especímenes, ya que los mercados cuentan con pocos puestos en comparación a los que ofertan otros tipos de carne de origen animal destinadas al consumo humano.

Selección de las muestras:

Tipo de muestreo: No probabilístico, por conveniencia de los criterios de inclusión.

Toma y transporte de las muestras:

Los garrosos se recolectaron en los mercados y se almacenaron en bolsas de polietileno individuales debidamente identificadas y esterilizadas por radiación ultravioleta, posteriormente fueron transportadas en una nevera portátil con hielo para evitar la proliferación bacteriana.

Recolección de la información

Esta se realizó por el investigador mediante el llenado de una ficha por cada puesto observando las características físicas de estos y la manera en que ofertaban el producto a la población (ver anexo).

Criterios de inclusión

- Todas las canales de garrobo que estaban a disposición de la población.
- Garrosos sacrificados con piel intacta.
- Canales frescas.

Criterios de exclusión:

- Carne de otras especies que no sean reptiles.
- Garrosos comercializados a las afueras de la ciudad en estudio.

Aspectos éticos:

Para realización de este estudio se conservó el anonimato del comerciante y de los establecimientos participantes, a cada comerciante se le explicaron los objetivos del estudio y se solicitó el consentimiento informado, explicando los beneficios e inconvenientes posibles.

Análisis de laboratorio

Detección de enterobacterias

Identificación de *Salmonella* spp.

El siguiente método se basa en el análisis de 25.0 g de la muestra, que se considera como una unidad analítica, en una proporción de 1:9 de muestra/caldo. Esta cantidad puede variarse siempre que se mantenga la misma proporción de 1:9 en el medio de

preenriquecimiento. La mínima muestra recomendada es de 25.0 g, es decir, una unidad analítica. Para algunos casos donde el riesgo es mayor, se utilizan dos unidades analíticas (50.0 g) o más (63).

Pre-enriquecimiento

En una bolsa ziploc estéril se pesaron 25 gramos de la muestra y se vertieron 225 ml de agua peptonada estéril, se homogenizó y luego se transfirió en un recipiente de boca ancha con tapón de rosca y se dejó reposar durante 60 minutos a temperatura ambiente. Se incubó a 37 °C durante 24 horas (63).

Enriquecimiento en medio líquido selectivo

Se transfirió 1 ml de la fase de preenriquecimiento a un tubo con 10 ml de caldo Selenito, luego se incubó a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 horas (64).

Aislamiento diferencial

Se homogenizó el caldo de enriquecimiento y con un asa microbiológica se sembró en placas Petri en medios selectivos como Agar S.S y Agar MacConkey posteriormente se incubaron a 35 °C durante 24 horas (64).

Se observó macroscópicamente las colonias y se seleccionaron al menos 2 colonias sospechosas de cada medio selectivo, realizando tinción Gram a las colonias sospechosas. Luego se realizó una purificación de las colonias seleccionadas en un medio idéntico del cual se tomó la colonia (64).

Pruebas bioquímicas

TSI (agar triple azúcar hierro)

Se inoculará el microorganismo en estudio tanto en picadura y sobre superficie inclinada en estrías, la línea de siembra no deberá extenderse a más de 3-5 mm del fondo del tubo; esto con el fin de evitar la entrada de aire a la parte profunda. Se incubará a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 horas (64).

LIA (agar lisina hierro)

Se realizó la misma operación que se hizo para TSI, tomando la asada de la misma colonia con la que se sembró en estos medios, pero sembrando ahora en el agar lisina hierro (LIA).

Se debe retener aquellos cultivos que muestren las reacciones características de *Salmonella* en los medios TSI y LIA para realizar las pruebas bioquímicas complementarias (64).

Los cultivos desarrollados en TSI que no parecen de *Salmonella* pero que presentan reacciones típicas en LIA deben trabajarse como cultivos presuntivos positivos, ya que, en estos casos, el medio LIA permite detectar *S. arizonae* y cepas atípicas de *Salmonella* que utilicen lactosa o sacarosa. Se descartó aquellos cultivos que muestren reacciones atípicas en ambos medios (64).

Medio SIM (Sulfuro-indol-movilidad)

Con asa bacteriológica recta estéril se tomó crecimiento del tubo TSI o LIA y se inoculó por punción vertical en el tubo con medio de SIM. Luego se incubará a 35 ± 2 °C durante 24 horas (64).

Para verificar la producción de indol, se adicionó al tubo con medio SIM que presente crecimiento de 0.2 a 0.3 ml de reactivo de Kovac's (64).

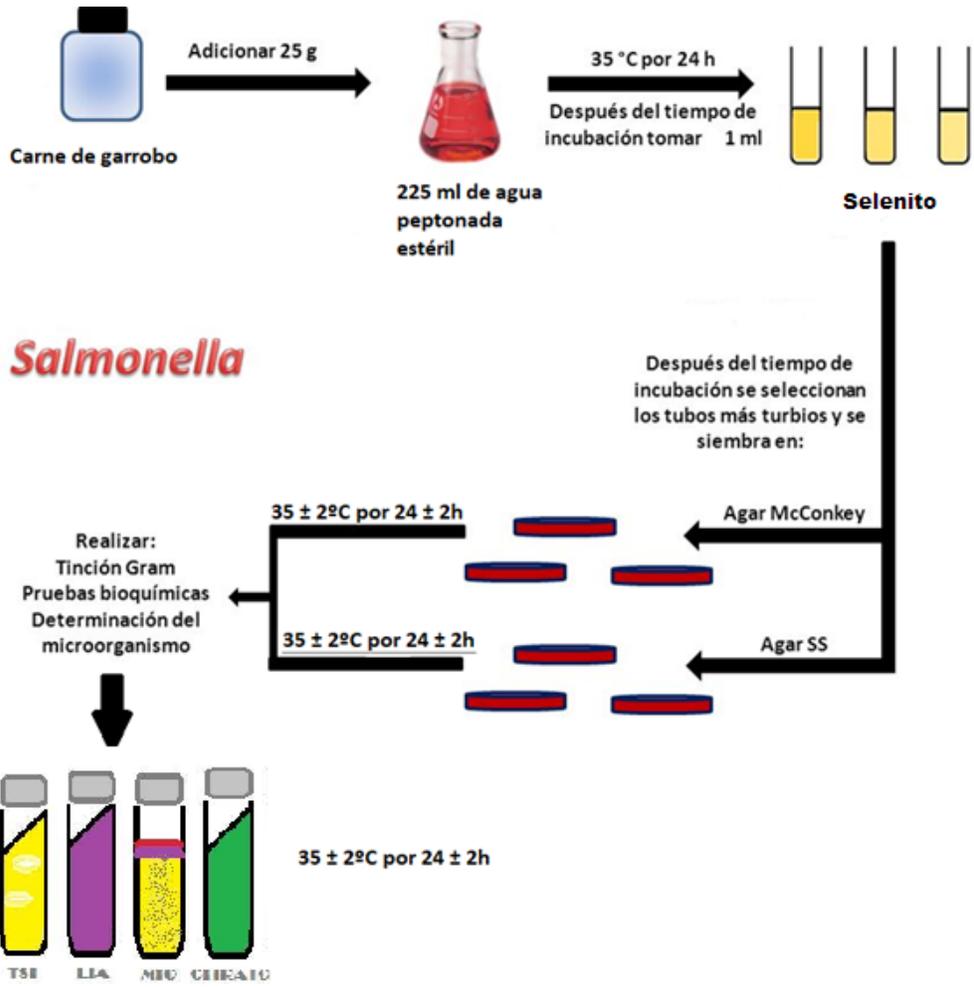


Figura 4. Procedimiento para identificación de *Salmonella* spp.

Identificación de *Shigella* spp

Se pesó 1 gramos de la muestra en 9 ml de caldo Gram Negativo y se vertió en un recipiente de boca ancha estéril, homogenizando por 3 minutos a 230 rpm. Luego muestras y controles se incubaron a 37°C por un periodo de 20 h (42).

Medio selectivo

Se transfirieron con asa 100 µl del cultivo de caldo de enriquecimiento a la superficie de las placas de Agar MacConkey y XLD y se rayaron para obtener colonias aisladas; se incubaron a 35–37°C por 24 ± 2 horas. Las colonias típicas de *Shiguella* en Agar XLD aparecen como colonias rojas o rosadas, usualmente alrededor de 1mm de diámetro y en Agar McConkey como colonias opacas o transparentes (42).

Pruebas Bioquímicas

TSI (Agar Triple Azúcar Hierro)

Se aislarán como mínimo dos colonias con aspecto típico de *Shigella* de cada uno de los medios de aislamientos selectivos utilizados (65).

Cada colonia se sembró en TSI, con asa bacteriológica, primero en el fondo por picadura y luego en la superficie inclinada por estrías y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Notándose las siguientes reacciones: alcalina (rojo) en la superficie inclinada, acida (amarillo) en el fondo, sin producción de SH₂ (sin ennegrecimiento del fondo del tubo) (65).

LIA (Agar Lisina Hierro)

Se aislaron como mínimo dos colonias con aspecto típico de *Shigella* de cada uno de los medios de aislamientos selectivos utilizados.

Se sembraron por picadura en el fondo y por estría en la superficie inclinada del medio LIA, se incubaron a 37°C durante 24–48 horas. *Shigella* da las siguientes reacciones: alcalina (color purpura) en la superficie inclinada, acida (amarillo) en el fondo, sin producción de SH₂ ennegrecimiento del fondo de tubo (65).

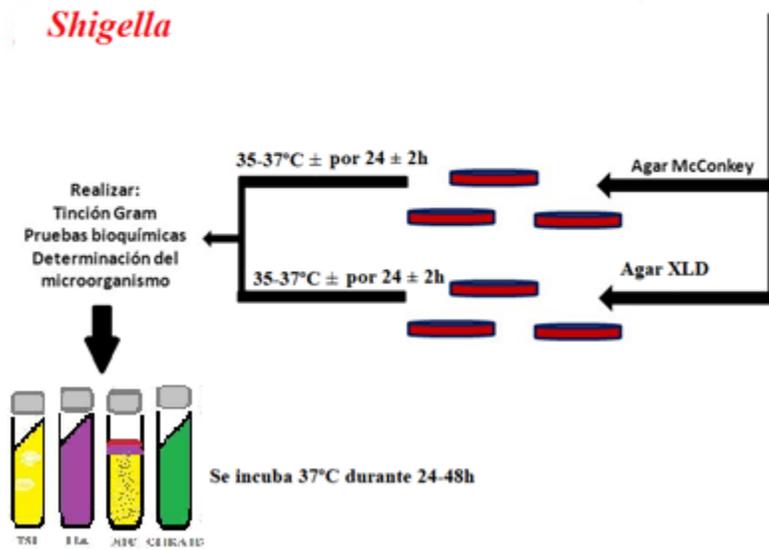
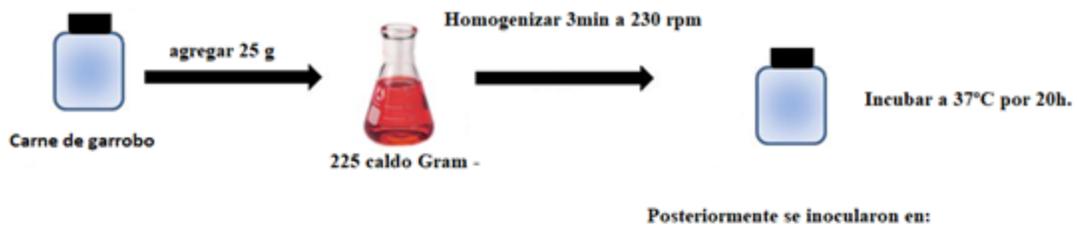


Figura 5. Procedimiento para identificación de *Shigella* spp.

Identificación de *Escherichia coli*

Se pesó 1 g de la muestra de carne y se depositó en una bolsa estéril con cierre hermético; se agregaron 9 ml de agua de peptona al 0.1% y se agitó vigorosamente durante 5 min para liberar los microorganismos de la matriz cárnica hacia el caldo de cultivo. Se prepararon diluciones decimales con el diluyente de agua peptonada hasta 10^{-3} g/ml (44).

Prueba confirmatoria de *Escherichia coli*

Se sembraron en placas de agar McConkey a partir de los tubos que demostraron la presencia de gas en la prueba confirmativa. Luego se incubaron las placas a 35°C durante 24 horas, y se observaron las colonias típicas fermentadoras de color rojo rodeadas de un halo opaco de precipitación de sales biliares (44).

Finalmente se realizaron las pruebas bioquímicas TSI, LIA, SIM y Citrato como se describieron en *Salmonella* y *Shigella*.

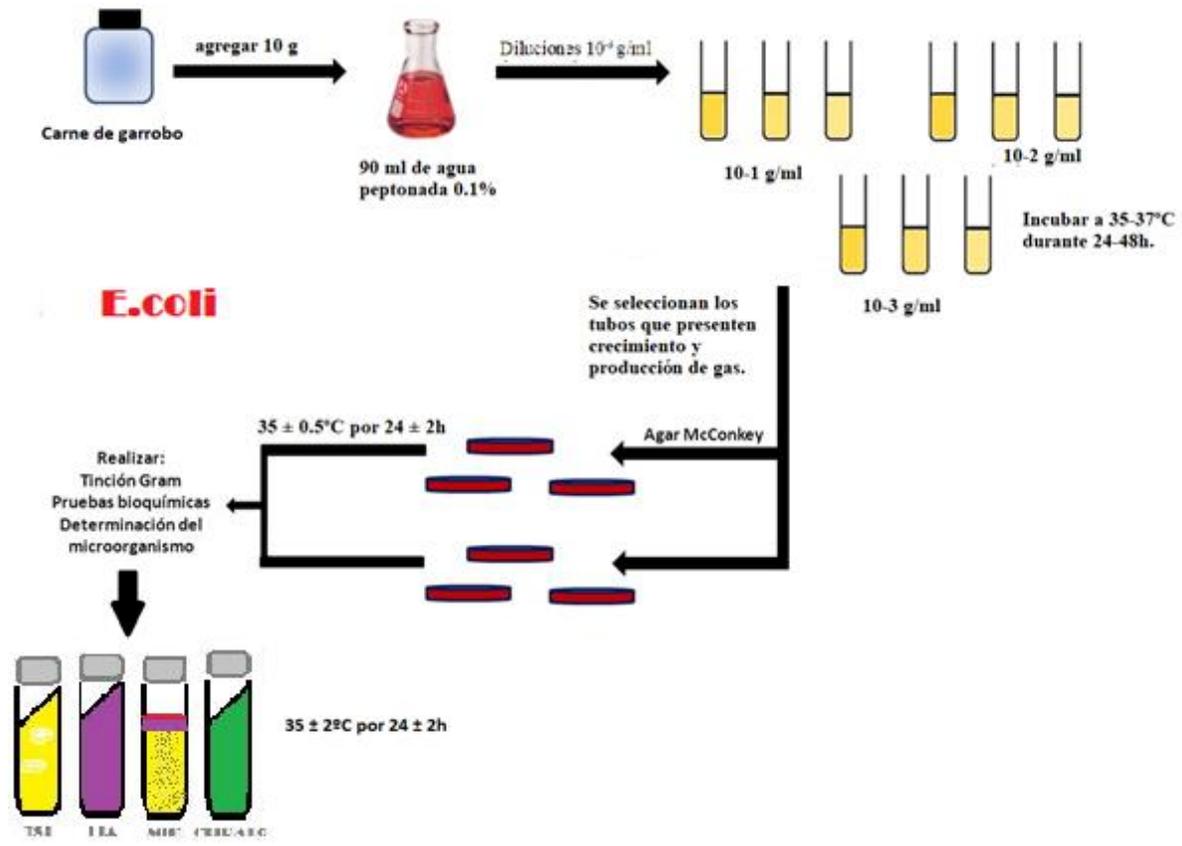


Figura 6. Procedimiento para identificación de *E. coli*

Detección de *Salmonella* mediante PCR

Para la identificación de *Salmonella* se utilizará la técnica de biología molecular Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), siendo esta la técnica de diagnóstico molecular más utilizada debido a su rápido protocolo y fácil uso.

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó a partir de las colonias sospechosas de *Salmonella*, fueron colocadas en 1 ml de agua libre nucleasas en un vial de 2 ml, se tomaron las colonias aisladas para purificación por pases y se sometieron a calentamiento por 10 minutos a 90°C, se enfriaron a temperatura ambiente y se centrifugaron a 3000 rpm por 3 minutos, almacenándose a -20 °C hasta su procesamiento.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Para la identificación de *Salmonella* spp se utilizaron los cebadores y el protocolo previamente descrito (66), la reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 15 µl, que contenía 7.5 de MasterMix 2X (Promega, EE.UU), 5 µl de ADN genómico; 0.5 µl de cada uno de los cebadores específicos a 500 nM forward 5'-GCTGCGCGCAACGGCGAAG -3' y reverso 5'- TCCCGCCAGAGTTCCCATT -3'. Para la búsqueda de *Salmonella enterica* ser. Typhimurium se utilizaron los cebadores Forward 5'-CCCGCTTACAGGTCGACTAC-3' y Reverse 5'-AGCGGGTTTTTCGGTGGTTGT- 3' (67), para *Salmonella enterica* ser. Enteritidis, se utilizaron los cebadores Forward 5'- AAATGTGTTTTATCTGATGCAAGAGG -3' y Reverse 5'- GTTCGTTCTTCTGGTACTTACGATGAC -3'. además, se agregó 1.5 µl de agua libre de nucleasas. Los ciclos constaron de una desnaturalización a 94 °C por 1 minuto, 65 °C por 1 minuto y 72 °C por 1 minuto y extensión a 72 °C por 1 minutos, esto por 40 ciclos y luego se realizó una extensión a 72 °C por 7 minutos. El producto de 389 pb (*Salmonella* spp) y de 299 pb (*Salmonella enterica*) se visualizaron por electroforesis en gel de agarosa (2%) teñido con bromuro de etidio.

Para la identificación de genes de resistencia en *Salmonella* spp se utilizaron los cebadores y el protocolo previamente descrito (68), la reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 15 µl, que contenía 7.5 de MasterMix 2X (Promega, EE.UU), 5 µl de ADN genómico; 0.5 µl de cada uno de los cebadores específicos a 500 nM, para el gen

^{bla}TEM fueron utilizados el forward 5'- TCCGCTCATGAGACAATAACC -3' y reverso, 5'- TTGGTCTGACAGTTACCAATGC -3', para la búsqueda del gen ^{bla}SHV se utilizaron los cebadores Forward 5'- TGGTTATGCGTTATATTCGCC- 3' y Reverse 5'- AGCGGGTTTTTCGGTGGTTGT- 3', para ^{bla}CXT, se utilizaron los cebadores Forward 5'- TCTTCCAGAATAAGGAATCCC -3' y Reverse 5'- CCGTTTCCGCTATTACAAAC -3', además se agregó 1.5 µl de agua libre de nucleasas. Los ciclos constaron de una desnaturalización a 94 °C por 1 minuto, 65 °C por 1 minuto y 72 °C por 1 minuto y extensión a 72 °C por 1 minutos, esto por 40 ciclos y luego se realizó una extensión a 72 °C por 7 minutos. El producto de 389 pb (*Salmonella* spp) y de 299 pb (*Salmonella enterica*) se visualizaron por electroforesis en gel de agarosa (2%) teñido con bromuro de etidio.

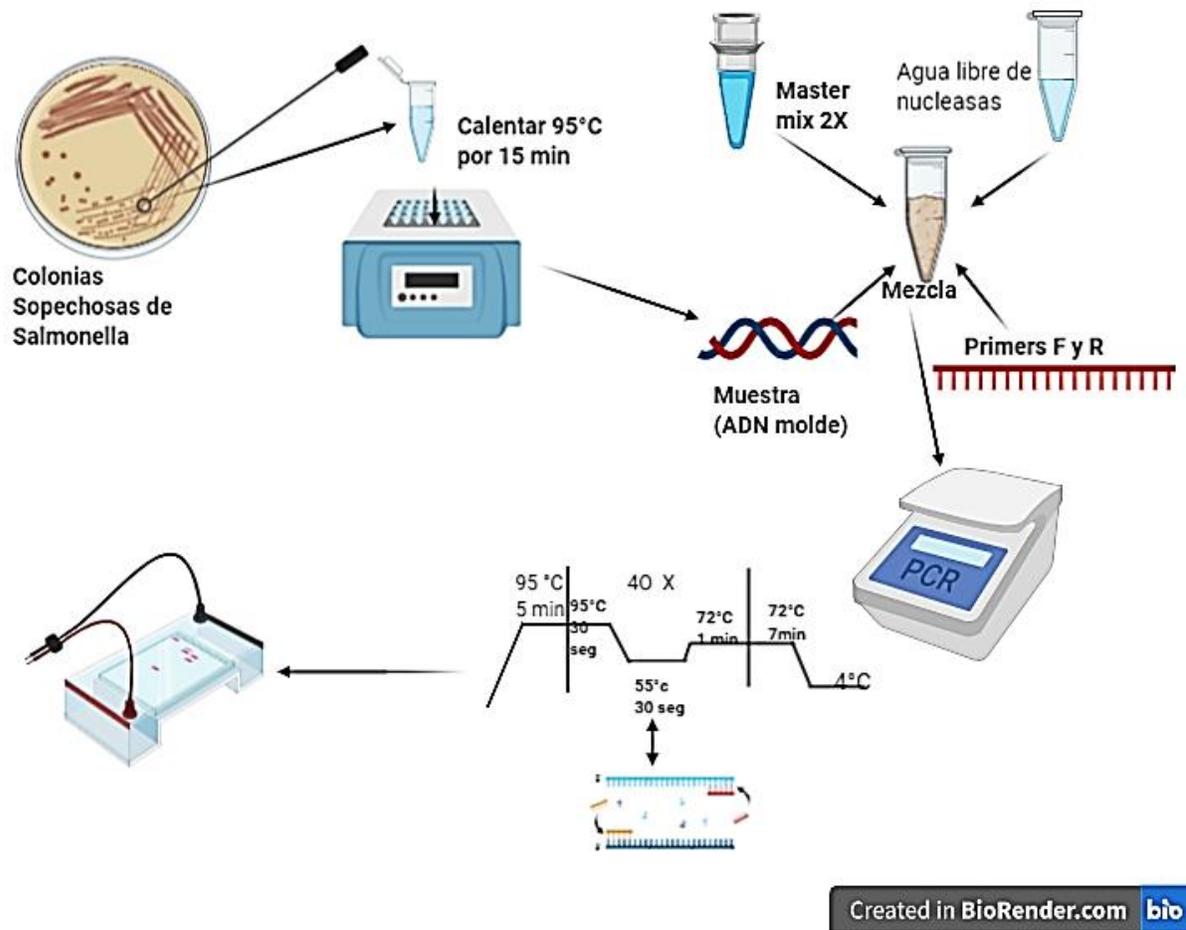


Figura 7. Procedimiento para Identificación de *Salmonella* mediante PCR.

Análisis estadísticos

Las variables categóricas recolectadas de la ficha de información y los resultados de laboratorio fueron analizadas con estadísticos descriptivos como frecuencia relativa y sus respectivos intervalos de confianza, la inferencia estadística se aplicó para la búsqueda de asociación entre variables, la prueba de Chi cuadrado y la prueba exacta de Fisher según correspondió.

RESULTADOS

Respecto al aislamiento de enterobacterias sin importar el mercado de procedencia se encontró que solo 2/13 muestras fueron negativas, mientras que la bacteria *Moellerella wisconsensis* se aisló con mayor frecuencia con 3/13 de las muestras analizadas (Figura 8)

La frecuencia con la que se aisló *Salmonella* spp fue 8/13 y *Pseudomona* spp 7/13 independientemente del mercado (Figura 9).

Las enterobacterias encontradas con mayor frecuencia en cada mercado revelaron que *Moellerella wisconsensis* fue la más frecuente en el mercado Central 2/3, mientras que en el mercado La Terminal la bacteria más frecuente fue *Enterobacter* spp 2/5 (figura 10)

En cuanto al aislamiento de *Pseudomona* spp no se encontró presencia en el mercado Central, sin embargo 7/13 muestras dieron positivas en los otros tres mercados, la prueba de Fisher no reveló diferencias significativas ($p=0.096$), (figura 11).

Salmonella spp se aisló en los cuatro mercados en estudio con una proporción mayor en el mercado La Terminal con 3/4, en el mercado Central y La Estación la frecuencia fue 2/3 respectivamente. La única muestra tomada del mercado de Sutiava fue positiva a *Salmonella* spp (figura 12).

Los serogrupos de *Salmonella* detectados mediante la técnica de biología molecular PCR, fueron *Salmonella* spp 8/13, *Salmonella* Enteritidis 6/13, no pudiéndose identificar 2/13 muestras (tabla 3).

En base a los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aisladas de carne de *Ctenosaura similis* se encontró que 8/8 cepas fueron resistentes a AMC y CL, mientras que los antibióticos más efectivos fueron SXT, T, CN y CIP con 8/8 cepas susceptibles respectivamente (Figura 14).

De las ocho cepas identificadas como *Salmonella*, siete de ellas dieron positivas al gen SHV, dos de ellas al gen TEM y una al gen CTX. Una muestra aislada del mercado La Estación dio positivo a los tres genes y una muestra del mercado Central dio negativa a los tres genes analizados, (Figura 15).

DISCUSIÓN.

Las bacterias que se aislaron de la carne de garrobo (*Ctenosaura similis*) fueron: *Enterobacter* spp, *Klebsiella* spp, *Klebsiella oxytoca*, *Moellerella wisconsensis*, *Shigella* spp, *Salmonella* spp, *Pseudomona* y *Yersinia* spp. Todas las bacterias aisladas fueron Gram Negativas, y la mayoría de ellas se encuentran en la microbiota cloacal de las iguanas, tal como refiere un estudio realizado en las islas Galápagos en donde encontraron una única especie enterobacteriana dominante, representada con mayor frecuencia por *Escherichia coli* (n = 68), *Citrobacter* spp. (n = 13) y *Klebsiella* spp. (n = 7), (69). En los animales restantes se observó una dominancia compartida de dos de las especies mencionadas. Los hallazgos de estas bacterias en la carne podrían deberse a una mala manipulación a la hora de eviscerar a los animales para su venta.

Salmonella spp se encontró en 53.8% de las muestras analizadas, estos datos se aproximan a los encontrados por Geue en 2001 quién reportó presencia de *Salmonella* en 54.1% de sus muestras. Es de esperar encontrar altas prevalencia de *Salmonella* en estas especies debido a que puede estar presente en la piel y a su vez forma parte de la microbiota intestinal saprofita (70). En Puerto Rico Ramos et al en 2017, también reporta datos aproximados de 52.5% de presencia de *Salmonella* spp en carne de iguana verde (4).

Salmonella es una de las principales bacterias que se ha visto involucrada en brotes por consumo de alimentos contaminados. El CDC estima que cada año en los E.E.U.U la *Salmonella* da origen a un millón de casos de enfermedades relacionadas con alimentos. No obstante, la manipulación en combinación de deficientes hábitos higiénicos de ciertas poblaciones juega un papel importante en materia de salud pública (71).

Se aisló *Pseudomona* spp en 53.84% de las muestra analizadas de la carne de garrobo de los diferentes mercados en estudio, estos resultados difieren con los publicados por Ebani et al en 2008 teniendo como resultado 10.09% de muestras positivas para *Pseudomonas* (72).

Estas bacterias están presentes ampliamente en el medio ambiente y son patógenos tanto para humanos y animales. Los reptiles domésticos representan una potencial fuente de infección porque liberan microorganismos oportunistas y patógenos en el ambiente a través de sus heces; es por esto que se debe tener cuidado durante la manipulación de estos especímenes (73).

Con respecto a *Klebsiella* spp se obtuvieron 7.60% muestras positivas, lo cual difiere con N. Carlos Erazo et al 2016 quién reportó mayor porcentaje de muestras positivas con un 13.3% para esta bacteria (74). En este mismo estudio se encontró presencia de *Shigella* en 9/30 muestras que equivalen al 30% difiriendo con este estudio ya que encontramos porcentajes de solo un 7.69% para esta enterobacteria. El género *Klebsiella* es un patógeno oportunista que frecuentemente es identificado en diversas infecciones tanto en humanos como animales. En animales las manifestaciones clínicas más comunes son infecciones de tracto urinario, tracto respiratorio y sepsis (75).

Respecto a los perfiles de resistencia se observó que amoxicilina/ácido clavulánico y cefalexina fueron los antibióticos menos efectivos contra las cepas de *Salmonella* encontrados, estos hallazgos son similares a los observados en otros estudios en los que se observó una alta frecuencia de enterobacterias resistentes a las penicilinas y cefalosporinas (75). Otros estudios anteriores reportar una resistencia más baja, como es el caso de un estudio realizado en el 2002 en el que la resistencia AMC fue solo de un 31.51% en *Salmonella* aisladas de reptiles domésticos (76). Estos datos confirman que el uso indiscriminado de los antibióticos en humanos y animales promueve el desarrollo de resistencia en bacterias de otras especies, incluyendo especies consideradas exóticas o silvestres.

La prueba de PCR identificó con mayor frecuencia el gen ^{bla}SHV en las cepas de *Salmonella*. Esto coincide con lo descrito por otros investigadores que refieren que las BLEE que se encuentran en *Salmonella* suelen ser derivados de las familias TEM o SHV, aunque también se han encontrado algunos otros grupos enzimáticos no relacionados, incluidos PER y CTX-M (77). La producción de BLEEs es un mecanismo de resistencia de las bacterias Gram Negativas y derivan de las beta-lactamasas de amplio espectro TEM y SHV. Estas enzimas confieren resistencia a todas las oximiino-cefalosporinas, inactivando así penicilinas, monobactámicos y cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación (78). Por tanto, los resultados del PCR coinciden con la alta resistencia hacia la AMC y cefalexina observada en la evaluación fenotípica (Kirby-Bauer).

CONCLUSIONES

Se observó una alta frecuencia de *Salmonella* en carne de *Ctenosura similis* comercializados en los mercados de la ciudad de León.

La especie *Salmonella entérica* seroguro Enteritidis fue la más frecuente.

Otras bacterias aisladas de la carne *Ctenosura similis* comercializadas en los mercados de la ciudad de León fueron *Klebsiella* spp, *Psuedomonas* spp, *Yersinia* spp, *Shigella* spp.

La identificación fenotípica de los perfiles de resistencia antimicrobiana reveló que las cepas de *Salmonella* fueron resistentes a amoxicilina más ácido clavulánico y cefalexina.

Los genes de resistencia para Betalactamasas de espectro extendido encontradas con mayor frecuencia en las cepas de *Salmonella* fue ^{bla}SHV.

Los resultados de la identificación genética de resistencia coinciden con las características fenotípicas en las cepas de *Salmonella* spp.

RECOMENDACIONES

1. Incrementar el número de muestras y realizar muestreos a lo largo del año.
2. Evitar contacto directo con especies de reptiles de vida libre.
3. Realizar sacrificio y eviscerado de reptiles tomando las debidas medidas higiénico-sanitarias.
4. Realizar la búsqueda de betalactamasas por métodos fenéticos.
5. Acatar las recomendaciones realizadas por la OMS sobre el manejo de los animales exóticos, incluyendo los utilizados como mascotas o para el consumo.

BIBLIOGRAFÍA

1. MINISTERIO DEL AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES. BIODIVERSIDAD EN NICARAGUA Un Estudio de País [Internet]. MINISTERIO DEL AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES; 1999. Available from: <http://www.bionica.info/biblioteca/MARENABiodiversidadNicaragua.pdf>
2. Escobedo LJG. Ámbitos de hogar de la Iguana de órgano *Ctenosaura palearis* (Sauria: Iguanidae) en el bosque tropical estacionalmente seco de Cabañas, Zacapa, Guatemala [Internet] [Pregrado]. [Guatemala]: UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA; 2016. Available from: <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/B273.pdf>
3. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. MANUAL DE MICROBIOLOGIA MEDICA. OCTAVA EDICION. MEXICO: EL MANUAL MODERNO, S.A; 1979. 650 p.
4. Ramos Ashley M, Serrano VJ, Viruet, I, González López, V, Puente Rolón A. Detection, isolation, and identification of *Salmonella* spp. in commercial chicken (*Gallus gallus domesticus*) and green iguana's (*Iguana iguana*) meat. Inter Scientific. 2017;4.
5. Gatica-Colima A, López-Esparza J. Aislamiento de *Salmonella* y otras enterobacterias de carne fresca de víbora de cascabel *Crotalus* spp. Rev Latinoam Recur Nat. 2011 Jan 1;7:78–88.
6. Madsen M. Prevalence and serovar distribution of *Salmonella* in fresh and frozen meat from captive Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*). Int J Food Microbiol. 1996 Feb;29(1):111–8.
7. Makanyanga TB, Mutema G, Mukarati NL, Chikerema SM, Makaya PV, Musari S, et al. Microbial quality of frozen Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*) meat samples from three selected farms in Zimbabwe. Int J Food Microbiol. 2014 Jan;170:44–7.

8. Oblinger JL, Kennedy JE, Jr., McDonald ED, West RL. Microbiological Analysis of Alligator (*Alligator mississippiensis*) Meat. *J Food Prot.* 1981 Feb;44(2):98–9.
9. Magnino S, Colin P, Dei-Cas E, Madsen M, McLauchlin J, Nöckler K, et al. Biological risks associated with consumption of reptile products. *Int J Food Microbiol.* 2009 Sep 15;134(3):163–75.
10. Kopper G, Calderón G, Schneider S, Dominguez W, Gutiérrez G. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua. Roma: Food & Agriculture Org; 2009.
11. Oromí DJ. Las toxiinfecciones alimentarias como problema de salud pública. *Medicina Integral.* 2002 Jun;40(1):1–3.
12. Sanchez JD, <https://www.facebook.com/pahowho>. OPS/OMS | Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) [Internet]. Pan American Health Organization / World Health Organization. 2015 [cited 2020 Nov 10]. Available from: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=41432&lang=es
13. Oromí DJ. Riesgos para la salud asociados a los alimentos. *Medicina Integral.* 2001 Jun;38(1):1–2.
14. Manuel Moreno G, Alejandra A. Higiene alimentaria para la prevención de trastornos digestivos infecciosos y por toxinas. *Rev Médica Clínica Las Condes.* 2010 Sep 1;21(5):749–55.
15. Inocuidad de los alimentos [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2019 [cited 2020 Feb 24]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
16. O'Rourke DP, Lertpiriyapong K. Biology and Diseases of Reptiles. In: *Laboratory Animal Medicine* [Internet]. Elsevier; 2015 [cited 2020 Mar 23]. p. 967–1013. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124095274000195>

17. Escobedo LJG. Ámbitos de hogar de la Iguana de órgano *Ctenosaura palearis* (Sauria: Iguanidae) en el bosque tropical estacionalmente seco de Cabañas, Zacapa, Guatemala [Internet] [Pregrado]. [Guatemala]: UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA; 2016. Available from: <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/B273.pdf>
18. Andreoletti O, Budka H, Buncic S, Colin P, Collins JD, Griffin J, et al. Public health risks involved in the human consumption of reptile meat - Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards. *EFSA J.* 2007;5(11):578.
19. MICROLIVESTOCK - LITTLE-KNOWN ANIMALS WITH A PROMISING ECONOMIC FUTURE [Internet]. 1991 [cited 2020 Mar 18]. Available from: <http://www.fao.org/3/V8300S/v8300s1h.htm>
20. Cubillos DAP. Aislamiento, identificación y serotipificación de enterobacterias del género *Salmonella* en una población de *Crocodylus intermedius* y Testudinos mantenidos en cautiverio en la estación de Biología Tropical Roberto Franco E.B.T.R.B de la Facultad de Ciencias - Universidad Nacional de Colombia en Villavicencio. :115.
21. Carrascal C. AK, Castañeda S. R, Pulido V. A, editors. Perfil de riesgo: *Salmonella* spp. (no tifoides) en pollo entero y en piezas. Bogotá: Ministerio de Protección Social [u.a.]; 2011. 133 p.
22. Lopardo HA, Predari SC, Vay C. Manual de Microbiología Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología [Internet]. Scribd. 2016 [cited 2020 Mar 20]. Available from: <https://es.scribd.com/document/377104602/Parte-21-Enter-o-Bacterias>
23. Hilbert F, Smulders FJM, Chopra-Dewasthaly R, Paulsen P. *Salmonella* in the wildlife-human interface. *Food Res Int.* 2012 Mar;45(2):603–8.
24. Giannella RA. *Salmonella*. *Med Microbiol* [Internet]. 1996 [cited 2020 Mar 20];4th edition. Available from:

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41061975000300011&lng=en&nrm=iso&tlng=en

25. Vázquez EG, Torres AH, Martínez JAH, Gómez JG. Infecciones por *Salmonella* y *Yersinia*. Med - Programa Form Médica Contin Acreditado. 2014 May;11(56):3322–6.
26. Michanie S. *Salmonella* en alimentos. CAMBIO DE PARADIGMA. 2° PARTE. :8.
27. Etcheverría AI, Calvete C, Colello R. Detección y caracterización de *Salmonella* spp. en la cadena productiva porcina. 2015 Dec;44.
28. Warwick C, Lambiris AJL, Westwood D, Steedman C. Reptile-related salmonellosis. J R Soc Med. 2001 Mar;94(3):124–6.
29. La *Salmonella* y los alimentos [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 [cited 2020 Mar 25]. Available from: <https://www.cdc.gov/spanish/especialescdc/salmonella/index.html>
30. Robledo López A. Investigación de *Salmonella* spp en alimentos mediante el método tradicional ISO 6579 y dos métodos inmunoenzimáticos. 2015 Apr 24;77.
31. Iglesias Collar E. Evaluación del riesgo asociado a la presencia de bacterias patógenas en carnes frescas y productos cárnicos listos para el consumo comercializados en la ciudad de León [Internet]. Universidad de León; 2014 [cited 2020 Feb 22]. Available from: <http://hdl.handle.net/10612/3275>
32. Hm B, Mt A. Vigilancia basada en laboratorio de *Salmonella*, Costa Rica, 2013. 2013;16.
33. Della Gaspera A, Caffer MI, Panagópulo M, Viñas MR, Barrios HA, Viora SS, et al. Brote de shigelosis en la ciudad de Luján, Argentina. Rev Argent Microbiol. 2015 Apr 1;47(2):112–7.

34. Bliven K, Lampel KA. Shigella. In: Foodborne Diseases [Internet]. Elsevier; 2017 [cited 2020 Mar 27]. p. 171–88. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123850072000061>
35. Nisa I, Qasim M, Yasin N, Ullah R, Ali A. Shigella flexneri: an emerging pathogen. Folia Microbiol (Praha). 2020 Apr;65(2):275–91.
36. Artieda J, Manterola JM, Tolosa E, Moreno B, Alustiza J, Astigarraga U, et al. Brote de Shigella sonnei en un centro escolar de Gipuzkoa. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. 2015 Mar 1;33(3):145–8.
37. Octavia S, Lan R. Shigella and Shigellosis. In: Molecular Medical Microbiology [Internet]. Elsevier; 2015 [cited 2020 Mar 27]. p. 1147–68. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123971692000652>
38. Escobar Masís N de los Á, Tercero Zeledón DK. Disenteria Bacilar. 2015;129.
39. Legros D, Pierce NF. Guidelines for the control of shigellosis, including epidemics due to Shigella dysenteriae type 1 [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2004 [cited 2020 Apr 1]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43252/9241592330.pdf;jsessionid=615BFE7866A8F7A80D92088731170E9F?sequence=1>
40. Pfeiffer ML, DuPont HL, Ochoa TJ. The patient presenting with acute dysentery – A systematic review. J Infect. 2012 Apr;64(4):374–86.
41. González-Torralba A, Alós J-I. Shigelosis, la importancia de la higiene en la prevención. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. 2015 Mar 1;33(3):143–4.
42. Barrantes K, Achí R. Calidad microbiológica y análisis de patógenos (*Shigella* y *Salmonella*) en lechuga. Rev Soc Venez Microbiol. 2011;31(1):31–6.
43. Margall N, Domínguez À, Prats G, Salleras L. Escherichia coli enterohemorrágica. Rev Esp Salud Pública. 1997 Sep;71:437–43.

44. Franco Anaya PA, Ramírez Medina LM, Orozco Ugarriza ME, López Gutiérrez LA. Determination of *Escherichia coli* and identification of the o157:h7 serotype in pork's meat commercialized in the most important supermarkets in Cartagena, Colombia. *Rev Lasallista Investig.* 2013 Jan;10(1):91–100.
45. Rodríguez-Angeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública México.* 2002 Sep;44(5):464–75.
46. Pérez Terrazzino GB, Condorí MS, López Campo A, Vega S, Carbonari C, Chinen I, et al. Calidad higiénico-sanitaria en plantas de faena de la provincia de Tucumán. Detección, aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. *Rev Argent Microbiol.* 2017 Jul;49(3):242–6.
47. Mead PS, Griffin PM. *Escherichia coli* O157:H7. *The Lancet.* 1998 Oct;352(9135):1207–12.
48. Margall N, Domínguez À, Prats G, Salleras L. *Escherichia coli* enterohemorrágica. *Rev Esp Salud Pública.* 1997 Sep;71:437–43.
49. Sánchez S, Martínez R, Alonso JM, Rey J. Aspectos clínicos y patogénicos de las infecciones por *Escherichia coli* O157:H7 y otros *E. coli* verotoxigénicos. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* 2010 Jun;28(6):370–4.
50. Ameer MA, Wasey A, Salen P. *Escherichia Coli (E Coli 0157 H7)*. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [cited 2020 Nov 1]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507845/>
51. Rahal EA, Kazzi N, Nassar FJ, Matar GM. *Escherichia coli* O157:H7—Clinical aspects and novel treatment approaches. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2012 [cited 2020 Oct 27];2. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2012.00138/abstract>
52. Spickler AR. *E.coli* Enterohemorrhagica. 2010;12.

53. FAO_PREVENCION.de.la.E.Coli.en.los.ALIMENTOS_FCC_ES.pdf [Internet]. [cited 2020 Nov 1]. Available from: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/fcc/news/FAO_PREVENCION.de.la.E.Coli.en.los.ALIMENTOS_FCC_ES.pdf
54. Torres Armendáriz V, Manjarrez Domínguez CB, Acosta-Muñiz CH, Guerrero-Prieto VM, Parra-Quezada RÁ, Noriega Orozco LO, et al. Interacciones entre *Escherichia coli* O157:H7 y plantas comestibles. ¿Se han desarrollado mecanismos de internalización bacteriana? Rev Mex Fitopatol. 2016;34(1):64–83.
55. Brote de infecciones por *E. coli* vinculado a la lechuga romana (romaine) | *E.coli* Infections | November 2019 | *E. coli* | CDC [Internet]. 2020 [cited 2020 Nov 1]. Available from: <https://www.cdc.gov/ecoli/2019/o157h7-11-19/index-esp.html>
56. A longitudinal study of *Escherichia coli* strains isolated from captive mammals, BIRDS, AND REPTILES IN TRINIDAD. J Zoo Wildl Med. 2000 Sep;31(3):353–60.
57. Ramos CP, Santana JA, Morcatti Coura F, Xavier RGC, Leal CAG, Oliveira Junior CA, et al. Identification and Characterization of *Escherichia coli* , *Salmonella* Spp., *Clostridium perfringens* , and *C. difficile* Isolates from Reptiles in Brazil. BioMed Res Int. 2019 May 27;2019:1–9.
58. García-Tello A, Gimbernat H, Redondo C, Arana DM, Cacho J, Angulo JC. Betalactamasas de espectro extendido en las infecciones del tracto urinario causadas por enterobacterias: aproximación a su conocimiento y pautas de actuación. Actas Urol Esp. 2014 Dec;38(10):678–84.
59. García CS, de la Gándara MP, García FJC. Betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de *Escherichia coli* y *Klebsiella*. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. 2010 Jan;28:12–8.
60. Peña C, Pujol M. Epidemiología y control de los microorganismos productores de BLEE nosocomiales. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. 2007 Oct 2;25:18–22.

61. Morejón García M. Betalactamasas de espectro extendido. Rev Cuba Med. 2013 Dec;52(4):272–80.
62. Morales I R. Terapia de bacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido. Rev Chil Infectol. 2003;20:24–7.
63. Yáñez E, Máttar S, Durango A. Determinación de *Salmonella* spp. por PCR en tiempo real y método convencional en canales de bovinos y en alimentos de la vía pública de Montería, Córdoba. 2008;(4):9.
64. Nutrition C for FS and A. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 5: *Salmonella*. FDA [Internet]. 2020 Feb 21 [cited 2020 Mar 10]; Available from: <http://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam-chapter-5-salmonella>
65. Perilla MJ, Ajello G, Bopp C, Elliott J, Facklam R, Knapp JS, et al. Manual de Laboratorio para la Identificación y Pruebas de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo. Organ Mund Salud. 2004;410.
66. Ferretti R, Mannazzu I, Cocolin L, Comi G, Clementi F. Twelve-Hour PCR-Based Method for Detection of *Salmonella* spp. in Food. Appl Environ Microbiol. 2001 Feb;67(2):977–8.
67. Paião FG, Arisitides LGA, Murate LS, Vilas-Bôas GT, Vilas-Boas LA, Shimokomaki M. Detection of *Salmonella* spp, *Salmonella* Enteritidis and Typhimurium in naturally infected broiler chickens by a multiplex PCR-based assay. Braz J Microbiol. 2013 Mar 19;44(1):37–41.
68. Asir J, Nair S, Devi S, Prashanth K, Saranathan R, Kanungo R. Simultaneous gut colonisation and infection by ESBL-producing *Escherichia coli* in hospitalised patients. Australas Med J. 2015 Jun 30;8(6):200–7.

69. Thaller MC, Migliore L, Marquez C, Tapia W, Cedeño V, Rossolini GM, et al. Tracking Acquired Antibiotic Resistance in Commensal Bacteria of Galápagos Land Iguanas: No Man, No Resistance. PLOS ONE. 2010 Feb 1;5(2):e8989.
70. Geue L, Löschner U. *Salmonella* enterica in reptiles of German and Austrian origin. Vet Microbiol. 2002 Jan;84(1-2):79-91.
71. La *Salmonella* y los alimentos - Especiales CDC - CDC en Español [Internet]. 2019 [cited 2019 Nov 28]. Available from: <https://www.cdc.gov/spanish/especialescdc/salmonella/index.html>
72. Ebani VV, Fratini F, Ampola M, Rizzo E, Cerri D, Andreani E. Pseudomonas and Aeromonas isolates from domestic reptiles and study of their antimicrobial in vitro sensitivity. Vet Res Commun. 2008 Sep;32(S1):195-8.
73. CDCespanol. Cuidado con los reptiles y anfibios como mascotas [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2017 [cited 2020 Nov 29]. Available from: <https://www.cdc.gov/spanish/especialescdc/reptilesanfibiossalmonella/index.html>
74. Carlos-Eraza N. Enterobacterias y su resistencia antimicrobiana en el caimán blanco (Caiman crocodilus) de vida libre en el río Madre de Dios, Tambopata-Perú. Rev Latinoam Recur Nat. 2016 Jul 1;12(2):53-9.
75. Amadi VA, Peterson R, Matthew-Belmar V, Sharma R, Hariharan H. Prevalence and Antibiotic Susceptibility of Gram-negative Aerobic Bacteria Cultured from the Intestine and Hepatopancreas of Blue Land Crab (Cardisoma guanhumii) in Grenada, West Indies. Microbiol Res J Int. 2015;169-79.
76. Ebani VV, Cerri D, Fratini F, Meille N, Valentini P, Andreani E. *Salmonella* enterica isolates from faeces of domestic reptiles and a study of their antimicrobial in vitro sensitivity. Res Vet Sci. 2005 Apr 1;78(2):117-21.
77. Weill F-X, Demartin M, Tandé D, Espié E, Rakotoarivony I, Grimont PAD. SHV-12-Like Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing Strains of *Salmonella* enterica

Serotypes Babelsberg and Enteritidis Isolated in France among Infants Adopted from Mali. *J Clin Microbiol.* 2004 Jun;42(6):2432–7.

78. Del Pozo L, Nazario S, Valencia A, Soto J, Riveros JC, Sacaquispe R, et al. Estudio de un brote intrahospitalario por *Salmonella typhimurium* productora de beta-lactamasa de espectro extendido SHV-5. *An Fac Med.* 2006 Oct;67(4):318–26.

ANEXO

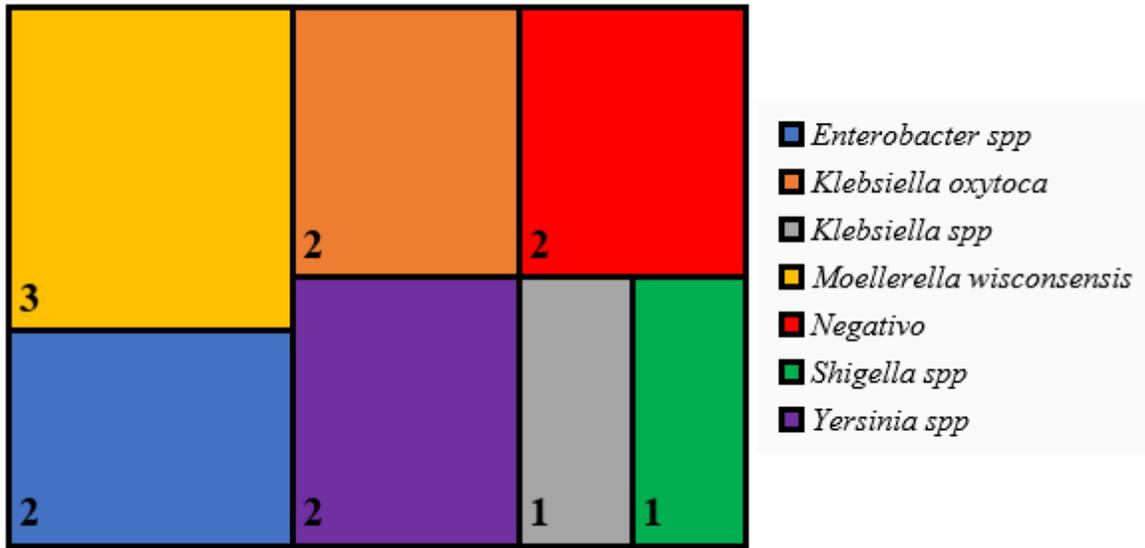


Figura 8. Enterobacterias aisladas de *Ctenosaura similis* distribuidos en los mercados de León

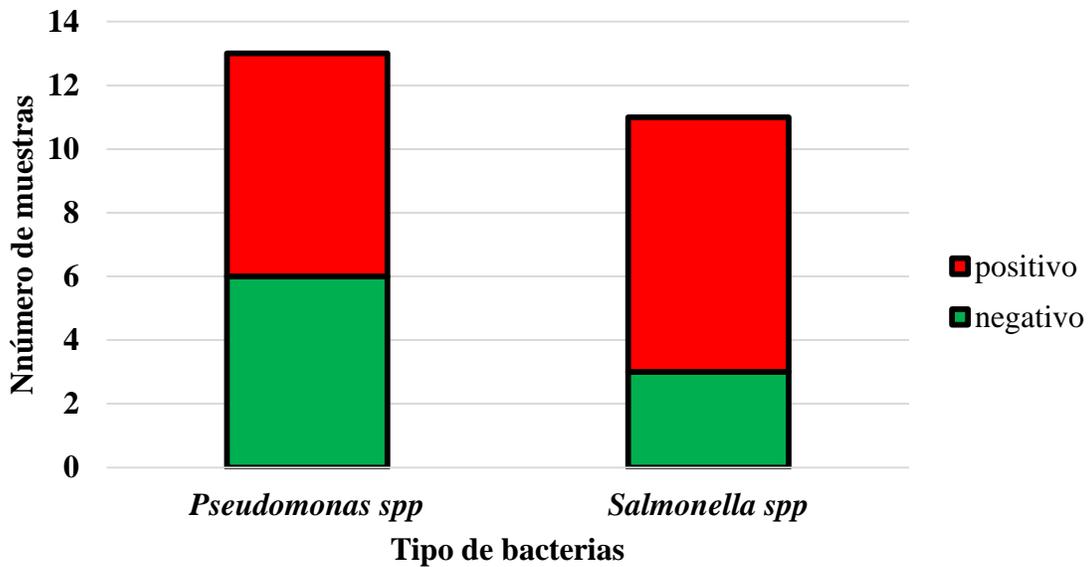


Figura 9: Frecuencia absoluta de *Pseudomona spp* y *Salmonella spp*, aisladas de *Ctenosaura similis* distribuidos en los mercados de la ciudad de León

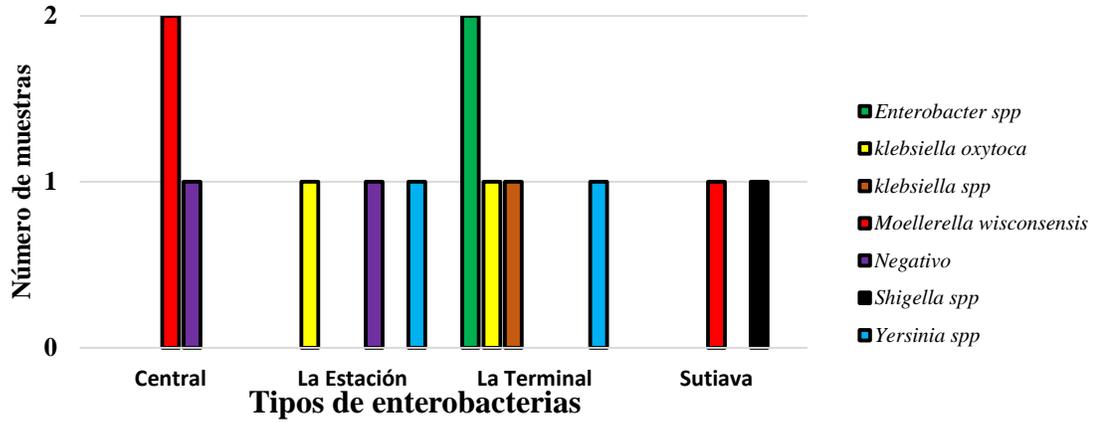


Figura 10. Enterobacterias encontradas por mercados muestreados

Figura 10. Enterobacterias encontradas en *Ctenosaura similis* por mercados muestreados

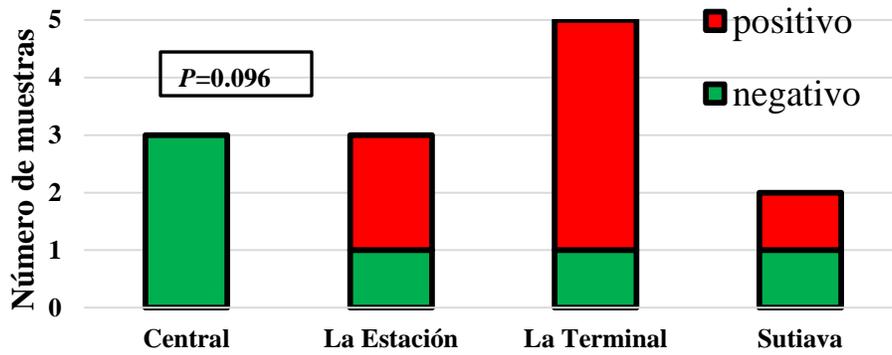


Figura 11. Aislamiento de *Pseudomonas* spp en muestras de garrobo de los diferentes mercados

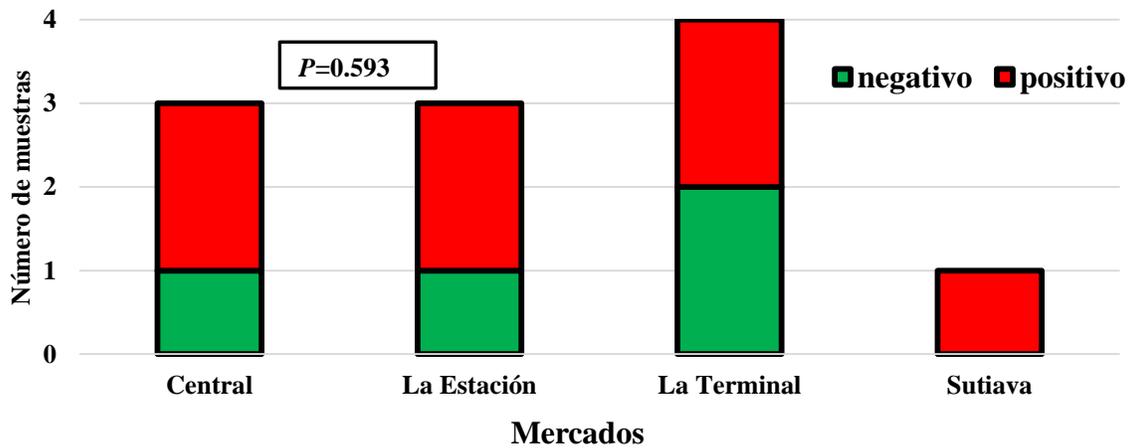


Figura 12. Aislamiento de *Salmonella* spp en los mercados muestreados

Agregar la ficha, sino la tiene hágala

MATERIALES Y MÉTODOS

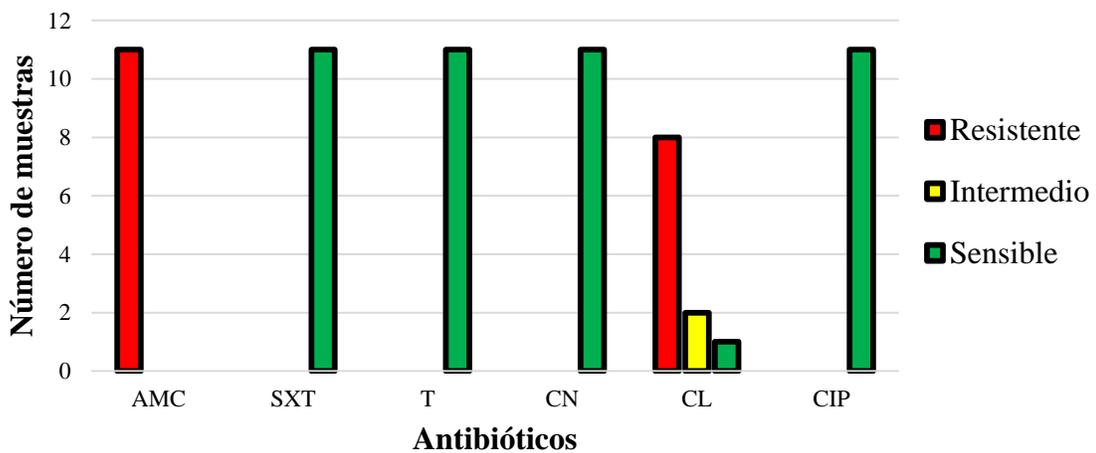


Figura 13. Perfil de resistencia de entebacterias aisladas de *Ctenosaura similis*

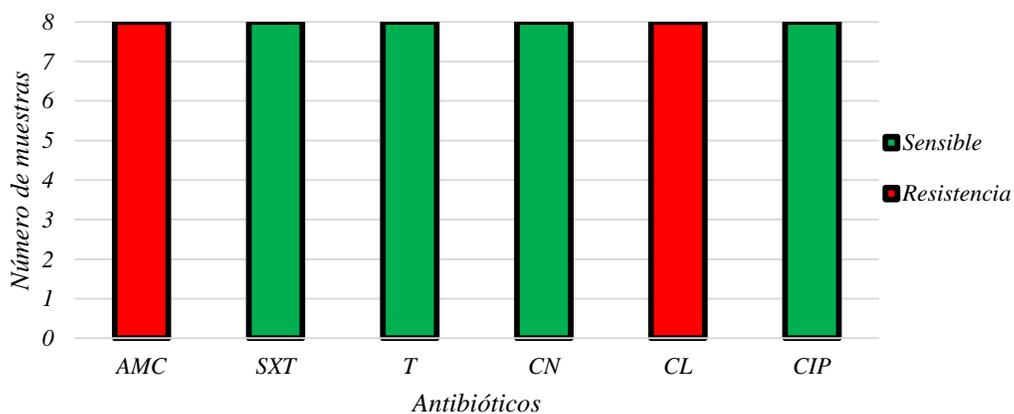


Figura 14. Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aisladas de *Ctenosaura similis*

Tabla 3. Serogrupos de *Salmonella* encontrados según el PCR

| Tipo de bacterias | Positivos | Negativos | % (IC95) |
|-------------------------------|-----------|-----------|---------------------|
| <i>Salmonella</i> spp | 8 | 5 | 61.53 (31.57-86.14) |
| <i>Salmonella</i> Typhimurium | 0 | 13 | 0.00 (0.00-24.00) |
| <i>Salmonella</i> Enteritidis | 6 | 7 | 46.15 (19.22-74.86) |
| Sin identificación | 2 | 11 | 15.38 (1.92-45.44) |

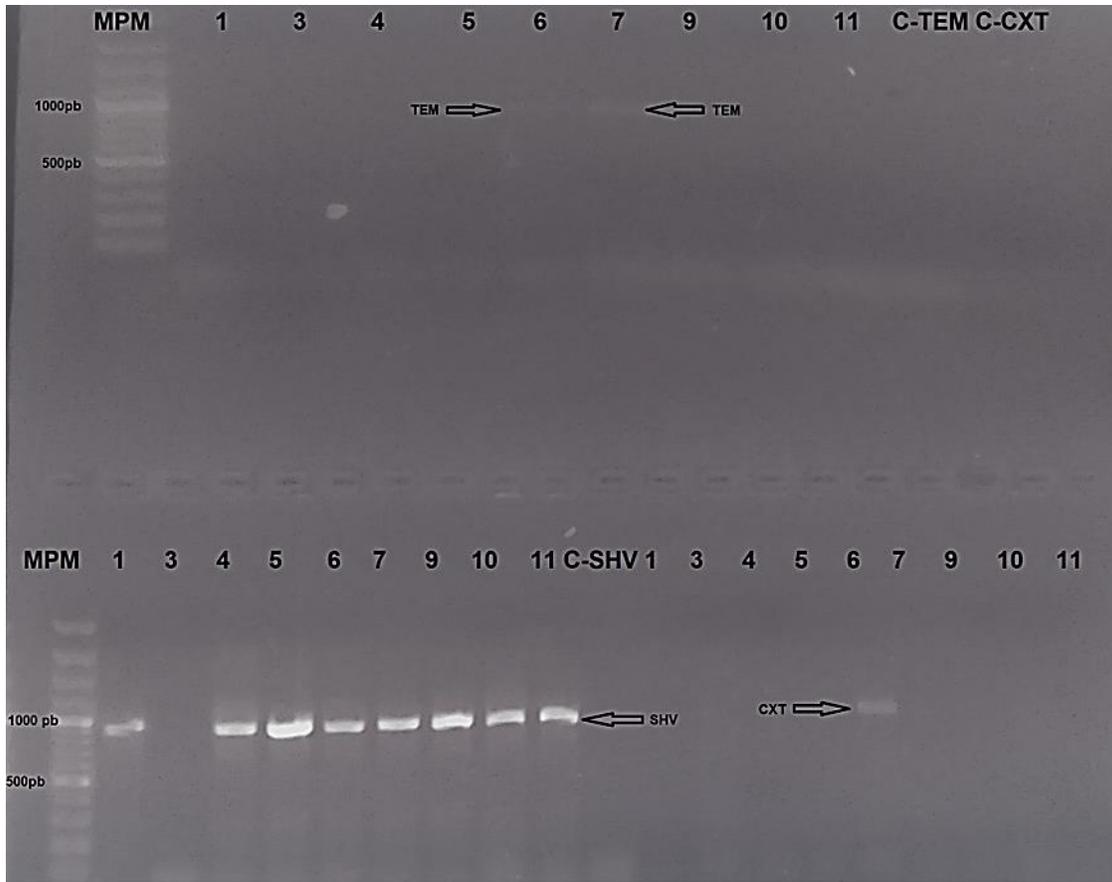


Figura 16. Detección de BLEE, de tipo TEM, SHV y CXT en *Salmonella* aisladas de carnes de *Ctenosaura similis* distribuidos en los mercados de León

MMP: Marcador de Peso molecular

C-: Control negativo

Equipos:

Incubadora

PCR

Materiales:

Asa microbiológica

Platos Petri

Tubos de ensayos de 16 x 60 mm

Gradillas

Bolsas estériles (ziploc)

Recipientes de boca ancha

Guantes

Mortero

Reactivos:

Agua peptonada estéril

Agar S.S

Agar MacConkey

Agar XLD

Pruebas bioquímicas (TSI, LIA, SIM)

Caldo selenito

Reactivo de Kovac's

PCR

Viales de 2ml estériles

Viales de PCR

Taq polimerasa

Agarosa

Bromuro de etidio

Marcador de peso molecular

Agua libre de nucleasa