

UNIVERSIDAD CIENTIFICA DEL SUR

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y BIOLÓGICAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“Determinación de la resistencia de enterobacterias aisladas en cloaca de lagartos caimán (*Dracaena guianensis*) mantenidos en cautiverio en un zocriadero de Lima”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

JHOSELYN SHEYLA OJEDA RAMIREZ

BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

LIMA – PERÚ

2017

RESUMEN

Los miembros del género *Enterobacteria* están ampliamente distribuidos en la naturaleza, se encuentran como comensales y patógenos en el tracto gastrointestinal de mamíferos domésticos y salvajes, reptiles, aves e insectos, causando un amplio espectro de enfermedades en sus hospederos, considerándose como la principal causa de importancia en salud pública. El presente estudio tuvo como objetivo determinar a través de análisis microbiológicos la resistencia de las cepas de enterobacterias aisladas en muestras cloacales de lagartos caimán (*Dracaena guianensis*) de crianza en cautiverio en un zocriadero de Lima. Se colectaron muestras de 57 animales las que fueron conservadas en tubos falcon con medio de transporte bacteriano Stuard (Merck) a 4°C aproximadamente y remitidos al laboratorio de microbiología de la Universidad Científica del Sur para su procesamiento; el aislamiento se realizó en agar sangre y McConckey, la identificación a través de pruebas bioquímicas que evidencien sus características metabólicas, se determinó el perfil de resistencia antibiótica por medio del método de disco difusión Kirby Bauer siguiendo la metodología del INS. Los resultados muestran microorganismos de los géneros *Shigella* sp. 15.32% (19/124), *Enterobacter cloacae* 12.09% (15/124), *Enterobacter aerogenes* 11.29% (14/124) y *Pseudomona aeruginosa*. Las pruebas de sensibilidad a antibacterianos determinaron más del 90% de sensibilidad a ciprofloxacina, gentamicina, enrofloxacin y nitrofurantoina, más del 80% de sensibilidad a ceftriaxona, neomicina, cefuroxima y estreptomycin, 62% de resistencia a tetraciclina y 73% de resistencia a ácido nalidíxico. Es el primer estudio microbiológico de cloaca en Lagartos caimán (*Dracaena guianensis*) para reconocer su valor zoonótico y determinación de resistencia antibacteriana.

Palabras Claves: *Dracaena guianensis*, lagarto caimán, microbiota entérica, antimicrobianos, zoonosis.

ABSTRACT

The members of the genre *Enterobacteria* are widely distributed in nature, they are found as diners and pathogens in the gastrointestinal tract of domestic and wild mammals, reptiles, birds and insects, causing a broad spectrum of diseases in their hosts, regarding them as the main cause of importance to public health. The current study had as an objective to determine through microbiological analyzes the resistance of the strains of enterobacteria isolated in sewages, samples of lizards cayman (*Dracaena guianensis*) of captive breeding in a breeding ground of Lima. Samples were collected from 57 animals which were maintained in Falcon tubes with bacterial Stuard means of transport (Merck) to 4°C approximately and were sent to the microbiology laboratory of the Cientifica del Sur University for processing; the isolation was performed on blood agar and McConckey, identification through biochemical tests that demonstrate their metabolic characteristics, it was determined the profile of antibiotic resistance by the method of disc diffusion Kirby Bauer following the methodology of the INS. The results showed micro-organisms predominant genera *Shigella* sp. 15.32% (19/124), *Enterobacter cloacae* 12.09% (15/124), *Enterobacter aerogenes* 11.29% (14/124) y *Pseudomona aeruginosa*. Susceptibility tests to antibacterials identified more than 90% of sensitivity to ciprofloxacin, gentamycin, enrofloxacin and nitrofurantoin, more than 80% susceptibility to ceftriaxone, neomycin, cefuroxime and streptomycin, 62% of resistance to tetracycline and 73% of resistance to nalidixic acid. It is the first microbiologic study was the cloacal Lizards cayman (*Dracaena guianensis*) to recognize its zoonotic value and determination of antibacterial resistance.

Key words: *Dracaena guianensis*, cayman lizard, enteric microbiota, antimicrobials, zoonoses.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN

II. MARCO TEORICO

2.1 Especie en estudio

2.1.1 Teiids

2.1.2 *Dracaena guianensis*

2.2 Familia *Enterobacteriaceae*

2.2.1 Clasificación taxonómica

2.2.2 Género

2.2.3 Caracterización morfológica y bioquímica

2.2.4 Estructura antigénica

2.2.5 Factores de virulencia

2.2.6 Patogénesis y patogenicidad

2.3 Diagnóstico

2.3.1 Aislamiento bacteriano

2.3.2 Pruebas bioquímicas

2.3.3 Resistencia

2.4 Importancia en Salud Pública

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de estudio

3.2 Toma de muestras

3.3 Procesamiento de muestras

3.4 Aislamiento bacteriano

3.4.1 Cultivos en agares selectivos

3.4.2 Pruebas bioquímicas

3.5 Determinación de susceptibilidad a los antibacterianos

IV. RESULTADOS

V. DISCUSIÓN

VI. CONCLUSIONES

VII. RECOMENDACIONES

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Porcentaje de géneros pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* aislados de cloaca de Lagarto caimán (*Dracaena guianensis*).

Cuadro 2. Porcentaje de las especies bacterianas aisladas de cloaca de Lagarto caimán (*Dracaena guianensis*).

Gráfico 2. Distribución porcentual de los aislados bacterianos frente a los antibióticos evaluados.

Gráfico 3. Distribución porcentual de aislamiento de *Shigella* sp. frente a los antibióticos evaluados.

Gráfico 4. Distribución porcentual de aislamiento de *Enterobacter cloacae* frente a los antibióticos evaluados.

Gráfico 5. Distribución porcentual de aislamiento de *Enterobacter aerogenes* frente a los antibióticos evaluados.

Gráfico 6. Distribución porcentual de aislamiento de *Escherichia coli* frente a los antibióticos evaluados.

I. INTRODUCCIÓN

Los lagartos del género *Dracaena* son individuos endémicos de hábitats neotropicales, pertenecen a la familia *Teiidae*, de orden *Squamata*, clase *Reptilia*, filo *Chordata*, reino *Animalia*; dentro del género *Dracaena*, encontramos dos especies: *Dracaena guianensis* y *Dracaena paraguayensis*. Siendo la especie más distribuida *Dracaena guianensis*; la cual la podemos encontrar en toda la Amazonía.

Actualmente, *Dracaena guianensis* se encuentra en situación indeterminada para nuestro País, y es muy poco lo que se conoce acerca de esta especie. Sin embargo, forma parte del grupo de animales silvestres más comercializados tanto en Perú como en Latinoamérica; por lo tanto, es considerado un potencial transmisor de patógenos exóticos para la salud animal y pública.

En Latinoamérica, la investigación acerca de microorganismos pertenecientes al género *Enterobacteria* se ha centrado en relación con las enfermedades transmitidas por agua y alimentos (ETA), siendo poco lo investigado con respecto a la transmisión por reptiles donde estas enterobacterias son parte de la flora intestinal normal. Sin embargo las autoridades reguladoras del medio ambiente reconocen el riesgo zoonótico que representan las especies silvestres frente a la población humana (Hernández, 2004).

Los reptiles frecuentemente son portadores asintomáticos de una gran variedad de enterobacterias con potencial patogénico; por lo que, los casos clínicos son reportados con menor frecuencia (Ramsay *et al.*, 2002). Sin embargo, numerosos estudios han asociado las enterobacterias con altos niveles de mortalidad en serpientes y tortugas, a su vez un gran porcentaje de investigaciones implican la herpetofauna con la transmisión de enterobacterias a los humanos, lo cual permite establecer la capacidad de generar procesos de infecciones zoonóticas y la importancia de la bacteria a nivel de salud pública (Saelinger y Lewbart, 2006).

De manera natural los reptiles son susceptibles a enfermedades que contribuyen a la disminución de sus poblaciones; aunque en la mayoría de los casos se desconoce la acción patógena de los microorganismos sobre estas especies silvestres, ignorándose el impacto que tienen las enfermedades bacterianas sobre las mismas, así como el tratamiento ideal para combatir los signos producidos

(Douglas y Stephen, 2006). Sin embargo, es de vital importancia tener en cuenta que la presencia de éste tipo de endopatógenos no se asocia necesariamente con estados de enfermedad (Lax *et al.*, 1995). Desde el punto de vista profiláctico, la susceptibilidad a patologías causadas por enterobacterias en reptiles se relaciona con estados de depresión en el animal, que pueden producirse a causa del estrés por el cautiverio, alteración en temperaturas medioambientales, el número de microorganismos presentes, edad, estado nutricional del animal, entre otras (Douglas y Stephen, 2006).

Estudios sobre *Enterobacteria* sp. en especies silvestres demuestran que su presencia es constante, pero se deben conocer las variedades implicadas y la sensibilidad que tienen tanto animales cautivos como silvestres para ser afectados por el microorganismo con el fin de minimizar los posibles inconvenientes que se puedan presentar en los programas de recuperación debido a enfermedades asociadas al enteropatógeno; además, parece ser que en los centros donde los reptiles están en condiciones de cautividad, hay más posibilidad de aislamiento de estas bacterias que en estado libre (Ramsay *et al.*, 2002).

II. MARCO TEORICO

La familia *Enterobacteriaceae* (bacterias entéricas), pertenece al orden XIII Enterobacteriales. Según la segunda edición 2001 del Manual Bergey de Bacteriología Sistemática, está conformada por 41 géneros y más de 100 especies (Quinn *et al.*, 2002), aunque menos de la mitad tienen interés desde el punto de vista veterinario (Stanchi, 2007). Su hábitat natural es el intestino y muchos de estos microorganismos provocan enfermedades tanto en los animales productores de alimentos, como en los animales de compañía y en el hombre (Biberstein y Chung Zee, 1994). Esta familia incluye géneros de gran importancia a nivel epidemiológico como son *Escherichia coli*, *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Yersinia* sp., *Morganella* sp., y *Arizona* sp., entre otras (Jawetz *et al.*, 2005).

Los microorganismos de esta familia son parecidos en cuanto a su morfología y caracteres tintoriales por ser bacilos gramnegativos asporógenos de un tamaño de 2-3 μm por 0.4 – 0.6 μm , catalasa positivos y oxidasa negativos, por carecer de citocromo c, lo cual es una propiedad bioquímica útil en el aspecto diagnóstico de la familia (Biberstein y Chung Zee, 1990; Stanchi, 2007). Los representantes de este grupo de microorganismos son anaerobios facultativos; en condiciones anaerobias, su crecimiento depende que en el medio existan carbohidratos como fuente de carbono; en aerobiosis, la gama de sustratos apropiados para su crecimiento incluye ácidos orgánicos, aminoácidos y carbohidratos (Biberstein y Chung Zee, 1990). Mediante observación microscópica resulta difícil poder diferenciar a los representantes de un determinado género de los que pertenecen a otros. Por lo tanto, resulta clave para el diagnóstico los productos resultantes de la fermentación de azúcares.

Casi todos los microorganismos de este grupo fermentan la glucosa a ácido pirúvico por la vía de Embden Meyerhoff (glicolisis); fermentan la D-glucosa a menudo con producción de gas, reducen los nitratos a nitritos y poseen un contenido de DNA del 39 al 59% de guanina más citosina (G+C), algunos poseen cápsula (Biberstein y Chung Zee, 1990; Stanchi, 2007).

Las propiedades que definen a la familia deben ponerse en evidencia para afirmar que la cepa es una enterobacteria. A partir de ahí se realiza la identificación, fundamentalmente por las características bioquímicas para estudiar el metabolismo proteico (presencia de ureasa, producción de indol, degradación del triptófano), el metabolismo glucosídico (fermentación de azúcares: glucosa, lactosa, sacarosa, etc.), la capacidad de utilizar el citrato como única fuente de carbono, la presencia de enzimas descarboxilasa y desaminasas y la producción de hidrógeno sulfurado, entre las características más importantes (Biberstein y Chung Zee, 1990).

Las enterobacterias pueden comportarse como apatógenas, patógenas oportunistas y patógenas importantes. Las primeras, pueden encontrarse como contaminantes de muestras clínicas, siendo aisladas del alimento y/o material fecal, como es el caso de *Hafnia*; las enterobacterias patógenas oportunistas ocasionalmente producen enfermedad a nivel del tracto digestivo, mientras que las patógenas importantes pueden causar daños entéricos y sistémicos, por poseer una estructura antigénica compleja y producir varias toxinas y otros factores de virulencia (Baümmler *et al.*, 1998, Biberstein y Chung Zee, 1990, Muñoz *et al.*, 2000).

2.1 Especie en estudio

2.1.1 Teidos

En la actualidad, se conoce a la familia *Teiidae* como la familia del Nuevo Mundo, las especies que pertenecen a esta familia las podemos encontrar en todo el sur y oeste de los Estados Unidos, México, Centroamérica, islas del Caribe, y en gran parte de América del Sur (con excepción de los Andes y el extremo sur del continente (Pianka y Vitt, 2006).

Desde la publicación de Burt y Burt en 1931, muy poca información nueva se conoce acerca de los lagartos del noroeste de América del Sur. El reporte de Dunn (1944), ha sido de gran valor como fuente de referencia para Sudamérica (en especial Colombia), pero la distribución de muchas especies son aún poco conocidas (Tamsitt y Valdivieso, 1963). Entre los nuevos géneros encontramos: *Ameiva*, *Callopistes*, *Cnemidophorus*, *Crocodilurus*, *Dicrodon*, *Dracaena*, *Kentropyx*, *Teius*, y *Tupinambis* (Presch, 1974).

El género *Ameiva* está compuesta actualmente por 32 especies reconocidas distribuidos en América Central y del Sur (Hower y Hedges, 2003). En Perú, existen cuatro especies de lagartos del género *Ameiva*: *A. ameiva*, *A. bifrontata*, *A. edracantha* y *A. septemlineata*, con las dos últimas acaecidas dentro del Parque Nacional Cerros de Amotape. *Ameiva edracantha* (Bocourt, 1874), es un lagarto de tamaño mediano (Jordán, 2010) distribuidos en el noroeste de Perú y suroeste de Ecuador. *Ameiva edracantha* se ha registrado en el bosque seco y tropical del Pacífico en el noroeste de Perú (Carrillo e Icochea, 1995; Jordán, 2010) y en los arbustos secos y lomas en el centro de Perú.

El género *Cnemidophorus* (Wagler, 1830) cuenta con alrededor de cuarenta y siete especies descritas de acuerdo para Maslin y Secoy (1986), y cuarenta y cinco especies, de acuerdo con Wright (1993). Estas especies se encuentran en una amplia gama de hábitats abiertos en Norte, Centro y Sur de América (Peters y Donoso-Barros, 1986) con una mayor diversidad de especies en América del Norte.

El teido *Cnemidophorus* de América del Sur se distribuye en tres principales grupos de especies: *lemniscatus*, *ocellifer* y *lacertoides*. Hay cinco especies del complejo *lemniscatus* en sólo la amazonía brasileña, *C. lemniscatus* (cariotipo D), *C. cryptus* (cariotipos A, B, C), *C. gramivagus* (cariotipo E); una en la Guayana, *C. pseudolemniscatus* (cariotipo F) (Peccinini-Seale y Frota-Pessoa, 1974; Ávila-Pires, 1995; Cole y Dessauer, 1993); y uno en Venezuela, *C. arenivagus* (Markezich *et al.*, 1997).

Un miembro más de la familia *Teiidae* es el género *Dracaena*. Este lagarto caimán tiene características morfológicas muy similares a su primo Tegu; dentro de estas las que más resaltan son: el cuerpo voluminoso y las extremidades cortas. Dentro de este género destacan dos especies: *Dracaena guianensis* y *Dracaena paraguayensis*. *Dracaena guianensis* tiene una mezcla entre un color verde y marrón claro en el cuerpo y una mezcla entre naranja y rojo en la cabeza. Los machos tienden a ser más brillantes, con la cabeza de color más roja que las hembras (Scollins T., 2002). *Dracaena paraguayensis* por el contrario, suelen ser mucho más monótonos, con cuerpos de color grisáceos y duras escamas levantadas a lo largo de la porción dorsal del cuerpo (Pianka y Vitt, 2003).

Los teidos suelen ser abundantes en hábitats terrestres y algunos subterráneos, pero raras veces se los suelen encontrar en la vegetación del suelo. Incluso teniendo en cuenta excepciones tales como la especie arbórea de *Kentropyx*, la cual la encontramos parcialmente en América del Sur (Vitt y Carvalho, 1992); los teidos logran su mayor éxito en ambientes terrestres.

Los altos niveles de actividad son apoyados por las altas temperaturas del cuerpo, algunas de las temperaturas más altas del cuerpo en actividad entre los lagartos se produce en la familia *Teiidae* (Casas-Andreu y Currola-Hidalgo, 1993). Lograr y mantener altas temperaturas corporales a altas latitudes y altitudes es un gran desafío para la mayoría de los vertebrados ectotérmicos y esto puede explicar la diversidad relativamente baja o incluso la ausencia de teiids en zonas templadas y en altas elevaciones.

Entre otras características se incluyen las pequeñas escamas granulares en la superficie dorsal y escamas grandes rectangulares que forman filas transversales en la región ventral.

Todas las especies de esta familia tienen las piernas completamente formadas y una morfología bastante distintiva que consiste en cuerpos aerodinámicos, colas largas, hocico relativamente

puntagudo, párpados y largas extremidades, también se caracterizan por ser cazadores recolectores activos y ponen huevos.

2.1.2 *Dracaena guianensis*

Pertenece al género *Dracaena*, el cual pertenece a la familia *Teiidae*, de orden *Squamata*, clase *Reptilia*, filo *Chordata*, reino *Animalia*. Tiene una distribución muy amplia, la podemos encontrar a lo largo de la cuenca amazónica del Brasil, Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú (Pianka y Vitt, 2006).

Una de las maneras más fáciles de identificar un lagarto caimán es por su patrón de color único. Estos lagartos tienen un cuerpo de color oliva a verde brillante con una cabeza de color rojo o naranja. La cola es gruesa de color marrón a negro y puede tener rayas amarillas. Los adultos, muestran algún grado de dimorfismo sexual, el macho suele tener la cabeza más amplia y de un color rojo más brillante que la hembra (Massary *et al.*, 2000).

Los lagartos caimán son uno de los lagartos más grandes que se encuentran en América. Mientras que las hembras pueden crecer hasta cuatro pies, los machos pueden alcanzar hasta cinco pies de longitud total y un peso de 3Kg (Massary *et al.*, 2000; Pianka y Vitt, 2006).

Los lagartos caimán son animales tropicales que requieren temperaturas cálidas durante todo el año con el fin de prosperar. Durante el día la temperatura ambiente debe mantenerse entre 26.6 y 32.2°C, con un área de calentamiento de 37.7°C o más. Las temperaturas nocturnas pueden caer, pero no debe ser inferior a 23.8°C (Massary *et al.*, 2000; Pianka y Vitt, 2006). La mayoría de los lagartos viven en hábitats secos, pero los lagartos caimán pasan la mayor parte de su tiempo en el agua o cerca de ella. Su hábitat es ciénagas boscosas y áreas alrededor de los ríos, donde tienen acceso a la vegetación. Durante el día se encuentran en el sol en las raíces o branches que sobresalen del agua. Por la noche se esconden en los arbustos y árboles. Los lagartos caimán (*Dracaena guianensis*) hacen uso interesante de su entorno acuático. Pasando la mayor parte de su tiempo por encima del agua, cuando son amenazados o perturbados dejan inmediatamente la superficie, se sumergen y nadan lejos (Pianka y Vitt, 2006). Se suele alimentar en aguas poco profundas. Su dieta está básicamente constituida por invertebrados y pequeños vertebrados. Así mismo suelen alimentarse de moluscos ya que sus poderosas mandíbulas y dientes molares traseros les permiten poder aplastar las conchas de moluscos y expulsar las piezas de la concha triturada con la lengua (Pianka y Vitt, 2006).

El lagarto caimán está protegido por la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas (CITES) y cotiza en el Apéndice II; sin embargo, la mayoría de las especies son criados en cautiverio para su comercio como mascotas (Pautrat *et al.*, 2002).

4.2 Familia *Enterobacteriaceae*

Como todas las bacterias gramnegativas, las enterobacterias poseen características comunes en lo que respecta a su pared celular, su membrana celular y sus estructuras internas. La pared celular está formada por una membrana citoplasmática que se encuentra rodeada por una pared dura y elástica, compuesta por péptidoglucano, responsable de darle forma a la célula. Por fuera de esta estructura se encuentra una membrana rica en lipopolisacáridos, hecho diferencial con respecto a las bacterias grampositivas (Prats, 2005).

Además de darle forma a la célula la membrana sirve de continente a un citoplasma repleto de ribosomas, y a un material genético compuesto por ácido desoxirribonucleico (DNA) que forma un conglomerado compacto nucleico que carece de membrana nuclear. También existe la posibilidad de que estas bacterias posean DNA extracromosómico como los plásmidos (Prats, 2005).

Tradicionalmente, la definición de la familia *Enterobacteriaceae* ha sido la siguiente: bacilos rectos gramnegativos, de tamaño medio (0.4 – 0.6 x 2.3 μ m), no formadores de esporas, anaerobios facultativos, móviles mediante flagelos peritricos o inmóviles, y con necesidades nutricionales sencillas. Fermentan la D-glucosa (a menudo con producción de gas), son catalasa positivos, oxidasa negativos (excepto los microorganismos del género *Plesiomonas*), reducen los nitratos de nitrito, y tienen un contenido de moles de G+C en su ADN que oscila entre el 39 y 59%. Son capaces de crecer en medios de cultivo no selectivos (agar sangre) o selectivos (agar MacConkey), no halófilos, poseedores del antígeno de Kunitz (también conocido como ECA, del inglés *Enterobacterial Common Antigen*) (Prats, 2005).

Una Comisión Judicial del Comité Internacional de Bacteriología Sistemática determinó finalmente que la nomenclatura válida era *Enterobacteriaceae* (Rahn, 1937). Se trata, entonces, de una familia muy heterogénea, que comprende un gran número de géneros y especies. Siendo su género tipo *Escherichia* (según Castellani y Chalmers, 1919). El primer aislado de *E.coli* correspondió a Theodor Escherich, en 1885 bajo el nombre de *Bacterium coli commune* en heces de neonatos. Luego fue renombrada como *Escherichia coli* y por muchos años fue considerada simplemente como una bacteria comensal del intestino grueso. No fue hasta 1935 cuando, a causa de un brote de diarrea en neonatos, se asoció a patología humana (Hacker *et al.*, 2007).

La familia *Enterobacteriaceae* puede ubicarse dentro de la clase *Gammaproteobacterias* (phylum de las *Proteobacterias*, dominio de las *Eubacterias*) mediante el análisis de la secuencia 16S rRNA. Dentro de esta clase, la familia *Enterobacteriaceae* está filogenéticamente emparentada con las familias *Alteromonadaceae*, *Vibrionaceae*, *Aeromonadaceae* y *Pasteurellaceae* (Euzéby, 1997).

En el caso de *Enterobacteriaceae*, los porcentajes de hibridación DNA-DNA obtenidos entre las especies de un mismo género son generalmente superiores al 70%. De la misma manera, un porcentaje similar se obtiene cuando las hibridaciones DNA-DNA se efectúan entre cepas tipo de especies de los diversos géneros y la cepa tipo de *Escherichia coli* (Euséby, 2005). Las especies de los géneros *Edwardsiella*, *Hafnia*, *Photorhabdus*, *Plesiomonas*, *Proteus*, *Providencia*, *Yersinia* y *Xenorhabdus* son excepciones a esta regla. A la inversa, las homologías DNA-DNA muestran claramente que las cuatro especies del género *Shigella* y *Escherichia coli* forman una única genoespecie, y si bien la nomenclatura de *Escherichia coli* tiene prioridad, el género *Shigella* se conserva por razones epidemiológicas y médicas (Euséby, 2005).

El número de especies dentro de la familia es más difícil de apreciar, ya que numerosas especies han sido reclasificadas dentro de otros géneros en forma de nuevas combinaciones. A la fecha el número de especies diferentes válidamente publicadas rondaría las 170 (Euséby, 2005).

2.2.1 Clasificación taxonómica

La familia *Enterobacteriaceae* cuenta con un gran grupo de bacterias gramnegativas no formadores de esporas, normalmente tienen 1.5 μm de longitud. Son anaerobios facultativos y con la excepción de *Saccharobacter* y algunas cepas de *Yersinia* y *Erwinia*, comparten la capacidad de reducir el nitrato a nitrito. Estas bacterias son generalmente móviles por flagelos excepto por *Shigella* y *Tatumella* y algunos otros miembros no móviles de esta familia. Por ejemplo, los serotipos de *Salmonella pullorum* y *gallinarum*. Una característica común de las enterobacterias, que ayuda a diferenciarlas de otras bacterias estrechamente relacionados, es la falta de citocromo C oxidasa, aunque hay excepciones como *Plesiomonas spp.* Las Enterobacterias son catalasa positiva con la excepción de *Shigella dysenteriae* 1 y las especies de *Xenorhabdus*.

Las enterobacterias fermentan una variedad de hidratos de carbono, pero su capacidad para producir ácido y gas a partir de la fermentación de la D-glucosa es una característica que mantiene una propiedad de diagnóstico importante y se utiliza comúnmente como una base para su detección y enumeración. Algunos miembros de la familia *Enterobacteriaceae* (por ejemplo, *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.*). Pueden ser reconocidas utilizando métodos que explotan su capacidad de fermentar la lactosa rápidamente (generalmente dentro de 24 a 48h) la producción de ácido y gas. Estos se denominan colectivamente bacterias coliformes y se utilizan a menudo como (fecales) organismos indicadores de la industria de los alimentos y el agua debido a que su hábitat normal es el tracto gastrointestinal de los mamíferos, aves, etc. Sin embargo, a diferencia de la familia *Enterobacteriaceae*, esto no es un grupo taxonómico bien definido.

Los miembros de las Enterobacterias están ampliamente distribuidos. Aunque las cepas de algunas especies son comensales inofensivos, como algunas cepas de *E.coli* otros son importantes patógenos para las plantas y los insectos. Su distribución ubicua significa que es inevitable que algunos miembros de la familia *Enterobacteriaceae* entrarán en la cadena alimentaria (Baylis *et al.*, 2011).

El nombre de Enterobacterias fue propuesto por primera vez por Rhan (1937). El tipo de género es *Escherichia*. Las enterobacterias comprenden un gran grupo de bacterias relacionadas genéticamente y bioquímicamente. Estudios filogenéticos los colocan en el filo *Proteobacteria*, Clase *Gammaproteobacteria* y Orden *Enterobacteriales* (Brenner *et al.*, 2005). Hasta la década de 1960 la clasificación bacteriana se basa en gran medida de las características fenotípicas y observaciones basadas en el cultivo. La introducción de métodos genéticos, tales como la hibridación ADN-ADN y guanina más citosina (G+C), revolucionó la taxonomía bacteriana y clasificación. Más recientemente el análisis de 16SrRNA secuencias de genes se ha utilizado para aclarar aún más las relaciones genéticas entre los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y su similitud con otras bacterias estrechamente relacionadas. En consecuencia, ha habido cambios recientes en la clasificación de los miembros de esta familia. De hecho, el número de géneros y especies de enterobacterias aumentó de 12 géneros y 36 especies en 1974 a por lo menos 34 géneros, 149 especies y 21 subespecies en 2006 (Baylis, 2006). En el momento de la escritura, estas cifras habían aumentado a por lo menos 48 géneros, 219 especies y 41 subespecies de la familia *Enterobacteriaceae*.

Esta lista revisada excluye algunos géneros adicionales que se han propuesto, pero aún no se han validado y aprobado para su inclusión. La situación es probable que continúe evolucionando como inéditos y hasta ahora se añaden los géneros y especies no descritas.

Entre los cambios recientes son la adición de nuevos géneros como *Consenzaea*, *Shimwellia*, la simbiote de insectos *Arsenophonus*, *Buchnera* y *Wigglesworthia* y la creación del género *Cronobacter* que incluye el patógeno conocido previamente como *Enterobacter sakazakii* (Iversen *et al.*, 2007; 2008). Además de *Enterobacter sakazakii*, este nuevo género incluye otras cinco especies (*malonaticus*, *turicensis*, *muytjensii*, *dublinensis* y *genomospecies I*) junto con 3 sub-especies de *Cronobacter dublinensis* (subsp. *Dublinensis*, subsp. *Lactaridi* y subsp. *Lausannensis*). Otros nuevos géneros y especies también se han creado para dar cabida a los cambios en la taxonomía. *Erwinia spp.* siempre han sido importantes debido a su asociación con enfermedades de las plantas y de este género una vez contenía un gran número de especies. Más recientemente, algunos *Erwinia spp.* fueron re-asignado a cualquiera de los géneros *Brenneria* o *Pectobacterium*, que abarcan especies fitopatógenos necróticas y especies fitopatógenos podridas blandos, respectivamente.

El género *Raoultella* incluye tres ex *Klebsiella spp.*, incluyendo dos especies (*ornithinolytica* y *planticola*), que se asocian con la formación de histamina. Algunas cepas de *R. planticola* fueron

previamente reconocidas como cepas productoras de histamina de *K. pneumoniae* u *Oxytoca* (Kamiki *et al.*, 2002). Otro ex *Klebsiella spp.* (*K. trevisanii*) ahora se ha reclasificado como un *R. planticola*. Tras la comparación de datos de ADN, el género *Photorhabdus* se ha creado para acomodar cepas de *Xenorhabdus* y ambos géneros incluyen ahora varias nuevas especies de enterobacterias.

Aunque la evidencia genética revela que *Shigella spp.* puede ser considerados para representar biogrupos metabólicamente inactivos de *E.coli*, este género se ha mantenido debido a la importancia clínica asociada con *Shigella* para evitar la confusión que cualquier reclasificación causaría. Además, la comparación de las secuencias de 16S rRNA ha revelado una relación filogenética estrecha entre *Salmonella*, *E.coli* y *Shigella* (Christensen *et al.*, 1998).

Como resultado del uso de métodos de clasificación basadas en la genética, la nomenclatura de *Salmonella* ha cambiado.

El género *Salmonella* comprende más de 2.500 serotipos, que alguna vez fueron considerados especies separadas basadas en una combinación de antígenos O y H flagelar somáticas expresadas por estas bacterias.

Estudios de hibridación ADN-ADN reveló que todos *Salmonella* forman un solo grupo de homología de ADN que comprende dos especies. La primera especie *S. entérica* comprende seis grupos o subespecies incluyendo subsp *S. entérica. entérica* (I), *S. entérica* subsp. *salamae* (II), *S. enterica* subsp. *arizonae* (IIIa), *S. entérica* subsp. *diarizonae* (IIIb), *S. entérica* subsp. *houtenae* (IV) y *S. entérica* subsp. *indica* (V). El séptimo grupo, *Salmonella bongori* se ha convertido en la segunda especies.

Cuadro 1. Clasificación de las enterobacterias

Clasificación de las enterobacterias	
Dominio	Bacteria (Eubacteria)
Reino	Proteobacteria
Sección	γ Proteobacterias
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Género tipo	<i>Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia, Shigella, Yersinia.</i>

(Vadillo *et al.*, 2003)

2.2.2 Género

Escherichia coli

E.coli es una bacteria gramnegativa, no esporulada, anaerobia facultativa que habita en los intestinos y heces de animales, incluidos los reptiles de sangre caliente (Berg, 1996; Gordon, 2003). *E.coli* se encuentra en la microbiota intestinal, que consta de más de 500 especies de bacterias que suman 10^{10} - 10^{11} el total de células por gramo de contenido intestinal. Aunque las bacterias anaerobias en el intestino superan en número a *E.coli* por 100/1 a 10.000/1. *E. coli* es el organismo aeróbico predominante en el tracto gastrointestinal.

E.coli puede ser clasificada por producir infecciones gastrointestinales, así como infecciones urémicas y neonatales. Las diferentes cepas patógenas de *E.coli* muestran especificidad de huésped y poseen atributos de virulencia distintos, lo que resulta en la producción de diferentes enfermedades. Cada patotipo tiene características distinguibles relacionadas a la epidemiología, patogenia, manifestaciones clínicas y tratamiento (Huang *et al.*, 2006). Las distintas categorías presentan

coincidencias. todas interactúan con la mucosa intestinal, producen enterotoxinas o citotoxinas, y pertenecen a ciertos serotipos O: H (Stanchi *et al.*, 2007).

Según Kaper *et al.* (2004), las cepas patógenas de *E.coli* se han englobado en diferentes grupos o patotipos: *E.coli enteropatogénicas* (EPEC), *E.coli enteroinvasivas* (EIEC), *E.coli enterotoxigénicas* (ETEC), *E.coli enteroagregativas* (EAEC), *E.coli verotoxigénicas* (VTEC) o *E.coli enterohemorrágicas* (EHEC) también conocidas como productores de toxina *Shiga* (EHEC o VTEC o STEC), *E.coli* con adherencia difusa (DAEC). Debido a que puede transitar en agua y sedimento, se utiliza a menudo como un indicador de la contaminación fecal del agua; utilizando cálculos intuitivos, se ha estimado que la mitad de la población de *E.coli* vive en estos hábitats secundarios. Algunos estudios recientes han revisado el papel de estos entornos y han demostrado que pueden apoyar el crecimiento de algunas cepas específicas (aquellas que son saprofitas), dependiendo de la disponibilidad de nutrientes y la temperatura (Soto-Gabriele *et al.*, 2000; Power *et al.*, 2005). Los diversos hospederos de *E.coli* tienen tamaño corporal, morfología intestinal, dietas, tiempo de retención de digestión y microbiota diferentes. Estas características pueden tener una influencia sustancial sobre la prevalencia y la densidad de *E.coli*, que varían de 0% a 100% y más de 6 órdenes de magnitud, respectivamente, entre las especies de huéspedes. En los seres humanos, la prevalencia es más del 90% (Mitsuoka y Hayakawa, 1972; Penders *et al.*, 2006), pero es sólo el 56% de los mamíferos silvestres, el 23% de las aves y el 10% en los reptiles (Gordon y Cowling, 2003). La concentración por gramo de heces en los seres humanos varía desde 10⁷ hasta 10⁹ unidades formadoras de colonias (ufc) (Slanetz y Bartley, 1957; Mitsuoka y Hayakawa, 1972) y es mucho menor en los animales domésticos, con un promedio entre 10⁴ y 10⁶ ufc (Slanetz y Bartley, 1957). En el tracto digestivo, las cepas de *E.coli* se encuentran en el intestino grueso, especialmente en el ciego y colon. Suelen residir en la capa mucosa que cubre las células epiteliales a través del tracto y se extienden hasta el lumen intestinal, cuando el moco es degradado es que se excretan en las heces (Poulsen *et al.*, 1994). El moco define un nicho ecológico nutricional a la que el metabolismo de *E.coli* se ha adaptado (Freter *et al.*, 1983). Las cepas que son aisladas de esta parte del intestino crecen gracias a los nutrientes que adquieren del moco, resulta que al menos siete azúcares derivan del moco; siendo el que desempeña un papel predominante el gluconato (Chang *et al.*, 2004). *E.coli* maximiza su crecimiento mediante el uso de la micro-respiración aeróbica y anaeróbica en el intestino (Jones *et al.*, 2007). Esto resulta en un tiempo de generación de 30 minutos *in vitro* en el moco intestinal (Licht *et al.*, 1999) en comparación con 40-80 minutos en los intestinos de ratones tratados con estreptomycin, en el que las células en el contenido luminal son estáticas (Poulsen *et al.*, 1994), y 120 minutos cuando la mide son “convencionalizada” mediante la eliminación de la estreptomycin y la alimentación de ellos con el ratón el contenido cecal (Rang *et al.*, 1999).

E. coli es una de las primeras especies bacterianas para colonizar el intestino durante la infancia, alcanzando una densidad muy alta (superior a 10⁹ ufc por gramo de heces) (Mitsuoka y Hayakawa, 1972; Penders *et al.*, 2006) antes de la expansión de anaerobios (Syed *et al.*, 1970). Después de dos años, la densidad se estabiliza y se mantiene en alrededor de 10⁸ ufc por gramo de heces hasta que disminuye gradualmente en los ancianos (Mitsuoka y Hayakawa, 1972). Las cepas iniciales pueden provenir de la microbiota fecal materna y también del personal de enfermería de la maternidad (Betelheim y Lennox-King, 1976).

2.2.3 Caracterización morfológica y bioquímica

E. coli es el principal bacilo anaerobio facultativo de la flora microbiana, fermenta azúcares como glucosa y lactosa, que reside en la flora normal del intestino del hombre y los animales (Vidal *et al.*, 2007). *E. coli* presenta morfología de bacilo recto, gramnegativo, miden entre 1 y 1.5 µm x 2 y 6 µm, según las condiciones pueden aparecer aislados o en pares. Entre los elementos constitutivos de su estructura, además de la pared bacteriana, se destacan los pili o fimbrias, cápsula, flagelos peritricos y membrana externa. Sin embargo, sólo algunas cepas presentan cápsula. Existen cepas sin flagelos y por consiguiente, sin movilidad. No se han descrito formas esporuladas de *E. coli* (Stanchi *et al.*, 2007).

Al fermentar la lactosa de lugar a la aparición de colonias de color rosado en el medio de MacConkey y presenta un perfil característico en la prueba IMViC. Algunas cepas producen colonias con brillo metálico en el medio eosina-azul de metileno, y otras producen hemólisis en agar sangre (Quinn *et al.*, 2004).

2.2.4 Estructura antigénica

La estructura antigénica está determinada por la presencia de 3 tipos de antígenos denominados: somáticos de la pared celular (O), flagelares (H) y capsulares (K); los cuales se emplean para realizar la serotipificación de *E. coli*. Cuando se determina el antígeno O se conoce el serogrupo, y cuando se establece los otros antígenos de superficiales se conoce los serotipos (o serovariedades) O: H (Vadillo *et al.*, 2003).

Los antígenos somáticos se sitúan en la pared celular y son de naturaleza lipopolisacáridica que forma la membrana externa (“outer envelope”) de la bacteria. Algunos cambios en la longitud de esas cadenas laterales en el LPS determinan si la cepa es lisa (S: smooth) o rugosa (R: rough). En las cepas R, las cadenas laterales del LPS son inexistentes o muy cortas. Ello determina el aspecto

de las colonias en medios sólidos, las lisas son brillantes y húmedas, mientras que las rugosas se presentan como secas y opacas.

Los antígenos flagelares (H) se relacionan con los flagelos de las cepas móviles, se han reconocido más de 50 de estos antígenos, los cuales están constituidos por una proteína flagelar llamada flagelina, éstos antígenos se destruyen con el calor, se aglutinan con anticuerpo anti-H, principalmente con IgG y actúan como adhesinas que facilitan la unión a la superficie de las mucosas (Quinn *et al.*, 2004). Los antígenos capsulares (K) están presentes en aquellas cepas que poseen cápsula, pueden estar constituidos por polisacáridos o proteínas, son termolábiles y se han reconocido hasta el momento más de 100 antígenos diferentes; estos antígenos K interfieren con el reconocimiento de los antígenos O, actúan como adhesinas y desempeñan un papel importante en la virulencia de las cepas (Valdés, 2001).

Existen 185 grupos de antígenos O reconocidos, denominados 01 a 0185. Son termoestables, resistiendo el calentamiento a 100 ó 121°C y son el primer grupo de antígenos que debe determinarse cuando se trata de serotipificar una cepa de *E.coli*. Se reconocen 56 grupos de antígenos H o flagelares, denominados H1 a H56. Son de naturaleza proteica, termolábiles y no todas las cepas de *E.coli* los poseen (Lazo *et al.*, 2009).

***Escherichia coli* enteropatogénica (ECEP)**

ECEP se considera un patógeno no invasivo y se basa en un T3SS para entregar proteínas efectoras directamente en células hospedadoras para subvertir numerosas funciones de la célula huésped, en última instancia conduce la enfermedad. Los primeros efectores que fueron descubiertos de ECEP fueron codificados en la isla de patogenicidad LEE. Más recientemente, se han descubierto efectores codificados fuera de la región LEE en todos los patógenos A/E. La cepa E2348/69 (serotipo O127:H6) de ECEP se ha utilizado en todo el mundo como una cepa prototipo para estudiar la biología ECEP, la genética y la virulencia. La reciente finalización de la secuencia del genoma de la cepa E2348/89 de ECEP (Iguchi *et al.*, 2009) arrojó análisis habilitados de más de 400 conocidas secuencias efectoras, de las cuales sólo 21 efectores putativos proporcionan una imagen clara de núcleo LEE y de genes efectoras no LEE.

LEE contiene los genes que codifican la adhesina de membrana externa (intimina), maquinaria SST3 (proteínas Esc y Sep), chaperones (proteína CES), traslocadores (EspA, EspB y EspD) y las proteínas efectoras (EspF, EspG, EspH, Mapa y EspZ), así como el receptor de intimina translocado (Tir), y las proteínas reguladoras Ler (regulador codificado-LEE), GrlR (regulador mundial de proteínas LEE, represor), y GrlA (regulador global de proteínas LEE, activador). EspA forma una estructura en forma de aguja que se proyecta desde la superficie bacteriana en la membrana plásmida

de la célula huésped. Después de la unión bacteriana, EspB y EspD interactúan y forman un poro en la membrana del hospedador. EspB es un translocador y tiene un efector de translocación (Luo y Donnenberg, 2006). En general, muchos efectores de translocación muestran superposición de funciones y tienen actividades de cooperación, un tema que se ha resumido como “multifuncional, cooperativo y redundante” efecto del comportamiento de ECEP (Dean y Kenny, 2006). La no-LEE-codificado (NLE) (Deng *et al.*, 2004) genes efectores se agrupan en seis islas de patogenicidad dispersos por todo el genoma (Dean y Kenny, 2009). Los efectores Nle conocidos hasta ahora son NleA-H, EspG2/Orf3, Cif, EspJ y EspL. NleA (también llamado EspI) se informó para inhibir la secreción de proteínas; EspJ inhibe la fagocitosis; NleE y NleH activan la respuesta inmune innata. Los estudios experimentales que se hicieron en animales sugieren que EspJ, NleB, NleE, NleF y NleH juegan un papel importante en la colonización y virulencia (Dean y Kenny, 2009; Garmendia *et al.*, 2005). Los patógenos A/E de *E.coli* utilizan su colección de proteínas efectores LEE-codificada y LEE-no codificadas se encargan de alterar y modular las propiedades celulares y de barrera del huésped de una manera bien controlada. La regulación LEE es un proceso muy complejo gobernado por diversos tipos de influencias reguladoras tales como los factores ambientales, una jerarquía de los reguladores codificados LEE (Ler, GrlR y GrlA), y un sistema de *E.coli* reguladores globales (H+NS, IHF, FIS, la detección del quórum, SOS-respuesta) (Mellies *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2010).

***Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET)**

Las características comunes de las infecciones por ECET en diferentes especies son que las bacterias se adhieren a las pequeñas células epiteliales intestinales (abrumadoramente en recién nacidos o en animales jóvenes), y colonizar el intestino de este modo. También secretan proteínas o péptidos (enterotoxina) que estimulan el intestino delgado para aumento de la secreción de agua y electrolitos y/o disminución en la absorción de líquidos. La capacidad de adherencia de ECET a las células epiteliales intestinal es principalmente células epiteliales se debe principalmente a la producción de cosas (3-7nm) apéndices superficiales proteicos (fimbrias o pili) que puede ser morfológicamente, biológica y antigénicamente diferente en diversas cepas. Algunos de ellos se parecen morfológicamente las fimbrias común (“Tipo 1” fimbrias o pili) de *E.coli* (Duguid, 1995). Con la ayuda de estas adhesinas (fimbrias), la adhesinas (fimbrias), las bacterias son capaces de adherirse a las microvellosidades de pequeñas células epiteliales intestinales, con lo que la transferencia de las enterotoxinas a las células diana es más intensa. Genes de virulencia de cepas de patógenos entéricos de *E.coli* son principalmente genes “extraños” a *E.coli* y pueden ser controlados por varios reguladores. Estos reguladores son; por tanto, una posible área interesante de investigación para ECET en

terminos de patogénesis (funciones *in vivo*) y el diagnóstico. Podemos esperar encontrar las condiciones de cultivo adecuadas para el eficiente en la producción *in vitro* de adhesinas y enterotoxinas solamente con más conocimientos sobre la regulación. En consecuencia, la mejora de los métodos para detectar estos factores *in vivo* e *in vitro* podría mejorar las tasas de detección de ECET.

2.2.5 Factores de virulencia

El desarrollo de la virulencia bacteriana es un fenómeno multifactorial. Las cepas patógenas de *E.coli* poseen diferentes tipos de factores de virulencia que contribuyen conjuntamente a potenciar su patogenicidad. Entre los factores de virulencia exhibidos por las cepas patógenas de *E.coli* se incluyen la cápsula, endotoxinas (lipopolisacárido-LPS-de la pared celular), adhesinas fimbriales y afimbriales, estructuras de colonización, exotoxinas (enterotoxinas y citotoxinas), sistemas de captación y liberación de hierro (sideróforos, enterobactina y aerobactina, producción de hemolisinas alfa y beta), antígenos O-K y proteínas de la membrana externa (OMP) implicadas en la resistencia al suero (complemento) y a la fagocitosis (Quinn *et al.*, 2004).

Los **polisacáridos capsulares** producidos por algunas cepas son capaces de evitar la fagocitosis. Este material es débilmente antigénico, y también interfiere con el efecto bactericida del complemento. La **endotoxina**, un componente lipopolisacárido (LPS) de la pared celular de las bacterias gramnegativas, es liberada tras la muerte de las bacterias. Se compone de un núcleo polisacárido y una envoltura de lípido A, y presenta una serie de cadenas laterales específicas. Durante el desarrollo de la enfermedad, el LPS es responsable de la actividad pirogénica, del daño endotelial que conduce a la coagulación intravascular diseminada y del shock tóxico. Estos efectos son de máxima importancia en los cuadros septicémicos (Markey *et al.*, 2013).

Las **fimbrias** presentes en la mayoría de las cepas enterotoxigénicas permiten la fijación a las mucosas del intestino delgado y del tracto urinario. La fuerte unión a la mucosa facilita la colonización, reduciendo el efecto expulsor de los movimientos peristálticos del intestino o del flujo de la orina. Muchas fimbrias han sido identificadas y tipadas: las que más frecuentemente se presentan en las cepas de *E.coli* patógenas para los animales domésticos son la K88 (F4), K99 (F5), 987P (F6) Y F41, F107 (F18ab) y 2134P (F18ac) (Orskov *et al.*, 1983, Rippinger y Bertschinger, 1995, Hirsh *et al.*, 2004).

La más frecuentemente detectada en cepas que infectan cerdos es la K88, mientras que K99 y F41 predominan en los aislados procedentes de terneros y corderos. El número de receptores para la K88 que presentan los enterocitos porcinos está determinado genéticamente y va declinando con la edad. Aunque los lechones recién nacidos son más susceptibles a la infección por cepas que

presentan la fimbria 7071, a las tres semanas ya son resistentes. Tanto K88 como K99 son codificadas por plásmidos.

Morfológicamente estas fimbrias son apéndices proteicos rectas, dobladas o sexuales procedentes de la membrana externa de las células bacterianas. Ellos tienen diversos pesos moleculares (de 15 a 25 kDa). En general, las fimbrias se componen de “mayores” y “menores” estructuras de las subunidades que se rigen y están enlazados bajo la dirección de los genes estructurados y accesorios, respectivamente. Para fimbrias adhesivas, la función de adhesivo es a menudo representado por las moléculas en la punta de los filamentos. La capacidad de las fimbrias (pili) de aglutinar las células rojas de la sangre de diferentes especies se reconoció muy temprano (Elsinghorst y Weitz; 1994) y se ha utilizado para la clasificación junto con el efecto de 0.5% de D-manosa: MS= sensible a manosa (adhesión bloqueado por mannose) o MR= manosa-resistente. Entre las fimbrias de las bacterias ECET de animales podemos reconocer las siguientes categorías: MS fimbrias hemoaglutinantes (Tipo I), MR fimbrias hemoaglutinantes (K88, K99, F41) y MR no fimbrias hemoaglutinantes (P987, F18ab, F18ac).

Una **adhesina** denominada intimina parece ser necesaria para la fijación de las cepas de *E.coli* enteropatógeno (EPEC) a los enterocitos. El efecto patológico de la infección con cepas patógenas de *E.coli*, aparte del atribuible a la endotoxina, deriva principalmente de la producción de enterotoxinas, verotoxinas o factores citotóxicos necrotizantes. Mientras que las enterotoxinas afectan exclusivamente a la actividad de los enterocitos, las verotoxinas y los factores citotóxicos necrotizantes pueden producir daños celulares demostrables en sus puntos de acción (Versalovic *et al.*, 2011).

Las **enterotoxinas** son producidas por ciertas cepas de *Escherichia coli*, con un alto grado de correlación con la expresión de adhesinas. Se han descrito dos tipos de enterotoxinas, la termolábil (LT) y la termoestable (ST), ambas están codificadas en plásmidos, junto con los genes que otorgan resistencia a antibióticos. Así mismo, cada tipo a su vez presenta dos variantes, denominadas 1 (I) y 2 (II) para la LT y a y b para la ST. Dentro de LTI, las cepas LTP-I (porcina) y LTh-I (humano) se pueden distinguir, y dentro LTII, sólo se pueden distinguir dos variantes antigénicas (LTIIa y LTIIb) (O'Brien y Holmes; 1996).

La enterotoxina LT es una proteína constituida por una molécula de la subunidad B (PM 11,500). La subunidad B se une a un gangliósido receptor situado sobre la superficie de las células epiteliales del intestino (O'brien y Holmes, 1996), mientras que la subunidad A actúa como activador de la adenilatociclasa. Los mecanismos de acción y estructura de la enterotoxina LT son bien conocidos y son muy similares a la toxina lábil *Vibrio cholerae* (CT). La principal diferencia entre LT y CT es que LT se exporta mucha menos en la superficie de las bacterias, y una cantidad significativa de

Esta toxina de *E.coli* se acumula en el espacio periplásmico. Esta diferencia puede explicarse fácilmente si aceptamos la hipótesis de que la LT de ECET podría tener su origen en *Vibrio cholerae* donde tiene cerca de 20 proteínas diferentes que se expresan (Hirst *et al.*, 1998).

La enterotoxina ST fueron descubiertas por Smith y Halls (1967), es una proteína de elevado peso molecular (85 000 Da) constituida por una subunidad A y cinco subunidades B, mientras que las termoestables (ST1a y ST1b) son pequeños polipéptidos de 1900 a 5000 Da. Las toxinas STa tienen variantes que son STaH y STaP [indicando H (humano) y P (porcino)]. Las toxinas STa se caracterizan además por la solubilidad del metanol y por la capacidad de inducir la secreción pequeña del fluido intestinal en ratones bebé y en menor medida en cerdos destetados y recién nacidos.

STb no es soluble al metanol y no reacciona en ratones bebé; sin embargo, puede inducir una pequeña secreción de fluido intestinal en cerdos recién nacidos y destetados.

Las enterotoxinas actúan incrementando la concentración de monofosfato cíclico de adenosina y guanosina en los enterocitos, lo que provoca una importante salida de agua y electrolitos a la luz intestinal. Las enterotoxinas termoestables (ST) poseen variantes genéticas definidas como ST1a, ST1b, debido a que son proteínas muy pequeñas actúan como malos inductores de respuesta inmune. ST1a es un péptido 2-kDa, que contiene de 11-18 aminoácidos, y se secreta en el medio de cultivo o en el fluido intestinal por la bacteria. Tiene la propiedad de activar la guanilatociclasa en las células del epitelio intestinal, lo que da lugar a un aumento de la concentración intracelular de guanósido monofosfato, que estimula la secreción de líquido y electrolitos al intestino e inhibe su reabsorción (Forte *et al.*, 1992; Stanchi *et al.*, 2007).

Las **verotoxinas (VT)** son muy similares en cuanto a estructura, función y antigenicidad a la toxina Shiga de *Shigella dysenteriae*. Son termolábiles y letales para los cultivos de células Vero. Las cepas verotoxigénicas son factores de virulencia críticos de *E.coli* (VTEC) pueden lesionar los enterocitos al colonizar el intestino y, cuando la verotoxina es absorbida y pasa al torrente circulatorio, dan lugar a lesiones del tejido endotelial en determinadas ubicaciones anatómicas, como el sistema nervioso central en el caso de los cerdos. Las verotoxinas inhiben la síntesis de proteínas en las células eucariotas, y la especial afinidad por determinados tejidos puede explicarse en una diferente expresión en los receptores para esta toxina. El daño vascular deriva en la aparición de edemas, hemorragias y trombosis (Quinn *et al.*, 2004).

Los genes *vt1* y *vt2* se encuentran codificados en fagos que se insertan en el cromosoma bacteriano lo que facilitaría la transmisión horizontal de la información a bacterias no patógenas, pudiendo

transformadas en VTEC. Aunque la mayoría de los casos son causados por cepas portadoras del gen *eae*, este sería esencial para la virulencia de VTEC, ya que se ha identificado una proteína autoaglutinante de membrana externa (Saa) en las cepas *eae*-negativas que estaría implicada en la adherencia del patógeno del epitelio intestinal. Otros factores de virulencia importantes para VTEC son una adhesina llamada intimina (codificada por el gen *eae*), necesaria para la lesión de adherencia y borrado del enterocito (lesión A/E) y una hemolisina enterohemorrágica (EhxA) (Polifroni *et al.*, 2009).

Se han descrito dos tipos de **factores necrotizantes citotóxicos, CNF1 y CNF2**, a partir de extractos de cepas de *E.coli* aisladas en cuadros de diarrea, septicemia e infecciones del tracto urinario en los animales y personas. Mientras que el CNF1 está codificado en el cromosoma, el CNF2 lo está en un plásmido transmisible conocido como Vir. Aunque estas toxinas han mostrado su capacidad de inducir cambios patológicos en animales de laboratorio y en cultivos celulares, su papel en la enfermedad es aún incierto (Quinn *et al.*, 2004).

La **hemolisina alfa** resulta útil como marcador de virulencia para determinadas cepas de *E.coli* y su expresión está correlacionado con la de otros factores de virulencia, pero no parece contribuir de forma importante a la patogenia. La producción de hemolisina es una característica frecuente en cepas de origen porcino asociadas a la enfermedad de los edemas y diarreas. Se supone que la actividad de esta toxina podría incrementar la disponibilidad de hierro durante la infección (Pociello, 2007).

Los **sideróforos** son moléculas capaces de fijarse al hierro, como la aerobactina y la enterobactina, y son sintetizados por algunas cepas patógenas. Cuando la disponibilidad de hierro en los tejidos es reducida, su presencia puede contribuir a la supervivencia bacteriana.

Algunas cepas patógenas de *E.coli* carecen de factores de virulencia bien definidos: En el pasado, el término EPEC (*E.coli* enteropatogénico) se empleaba para definir todas las cepas patógenas, mientras que en la actualidad se emplea como sinónimo de *E.coli* “*attaching and effacing*” (AEEC), es decir, aquellas cepas que muestran un tipo específico de adherencia a la pared intestinal caracterizado por destruir las microvellosidades y una adherencia destructiva a las células epiteliales (Quinn *et al.*, 2004). El término *E.coli* enterohemorrágico (EHEC) se aplica a aquellas cepas que, como la O157: H7, causan disentería en seres humanos.

4.2.6 Patogénesis y patogénesis

El mecanismo por el cual *E. coli* produce diarrea implica, en casos típicos, la adherencia de los gérmenes a un receptor de glucoproteína o glucoproteínicos seguida de la producción de BFP (*Bundle forming pilus*), sustancia nociva que daña las células intestinales o dañan la función del intestino (Alarcón *et al.*, 2000).

El primer paso para desarrollar la patogénesis es la adherencia. La capacidad de una célula de *E. coli* para adherirse a los gangliósidos receptores de las microvellosidades del epitelio intestinal está vinculada a su propiedad de expresar estructuras proteicas de adhesión (adhesinas) sobre las fimbrias (Kaper *et al.*, 2004). Obviamente las distintas adhesinas de *E. coli* (F1, F2, F3, F4, F5, F6, F41, F65) reconocerán a sus correspondientes receptores gangliosídicos. Aquellas cepas que no expresan adhesinas no serán capaces de permanecer sobre el epitelio urinario, respiratorio o intestinal; por lo tanto, serán arrastradas por el flujo de líquido. Esta complementariedad adhesina/receptor explica el tropismo por distintos tejidos. Tales adhesinas se expresan sólo a 37°C como señal de que las bacterias se hallan en un animal de sangre caliente (Kaper *et al.*, 2004; Quinn *et al.*, 2004).

Mecanismo de defensa del hospedador, tales como la secreción de un mucus con sustancias semejantes a los receptores para adhesinas o la descamación de la mucosa que había sido colonizada por bacterias adherentes, tienden a limpiar la superficie del intestino. Los movimientos ciliares del epitelio respiratorio o corrientes líquidas en el tracto urinario constituyen otro mecanismo defensivo para eliminar microorganismos que no están firmemente adheridos. IgA o IgG imunes, según la especie y la edad del animal, previenen la adherencia de bacteria a sus receptores (Stanchi *et al.*, 2007).

La adherencia de *E. coli* se debe a la presencia de unos filamentos proteicos (de 100 a 1000 por célula) que se proyectan a lo largo de toda la superficie de las bacterias y que reciben el nombre de fimbrias o *pili*. Dichos filamentos consisten en estructuras fímbricas rígidas (de 5 a 7 nm de diámetro) o flexibles (de 2 a 3 nm) que están constituídas por unas 1000 subunidades estructurales repetidas, y unas pocas (menos de 10) subunidades menores funcionales, entre las que se encuentran las responsables de la adhesión, que se sitúan en la punta de la fimbria. No obstante, también se han encontrado adhesinas afímbricas. La mayoría de las adhesinas posee la capacidad de hemaglutinar eritrocitos de diferentes especies animales (Vadillo *et al.*, 2003).

Salmonella

Según la última edición del manual de Bergey, el género *Salmonella* se halla encuadrado dentro de las Gamma-Proteobacterias, en el orden *Enterobacteriales*, perteneciendo a la familia *Enterobacteriaceae* (Vadillo *et al.*, 2003). *Salmonella* sp. es la enterobacteria de mayor importancia a nivel de salud pública por producir trastornos gastrointestinal y septicemia no solo en el ser humano, sino en todas las especies de animales (Turnbull, 1979; Selbitz *et al.*, 1995; Lujan y Blas, 2007).

Se le considera parásitos intestinales de los animales de sangre caliente o fría y también del hombre, que se eliminan por las heces y se diseminan en el medio ambiente, donde pueden sobrevivir durante un tiempo variable según las condiciones de temperatura, pH y humedad. En su mayoría son patógenos para el hombre y los animales. En el hombre pueden producir dos modelos principales de infección.

Infecciones generalizadas del sistema reticuloendotelial con fiebre continua, cuyo cuadro más característico son las fiebres entéricas, tipo fiebre tifoidea, producidas por *S. Typhi* y un reducido grupo de serotipos. Y el otro grupo son infecciones localizadas en el tubo digestivo o enteritis febriles (Pumarola *et al.*, 1987; Joklik *et al.*, 1994; Zamudio *et al.*, 2011).

Los microorganismos del género *Salmonella* están extensamente diseminados en la naturaleza como comensales y como patógenos del aparato digestivo de los mamíferos domésticos y silvestres, aves, reptiles e insectos, en los cuales pueden llegar a producir una amplia gama de enfermedades. Todas las salmonelas son potencialmente patógenas (Mahajan *et al.*, 2003 y Stanchi, 2007) al ser parásitos intracelulares y por medio de los macrófagos en los que se encuentran, se diseminan por todo el organismo aprovechando la vía linfática y sanguínea (Stanchi, 2007). En medicina humana están descritas diversas presentaciones de salmonelosis: fiebre entérica, septicemia y finalmente gastroenteritis; mientras tanto, en medicina veterinaria se ha determinado que esta bacteria puede provocar septicemia, enteritis aguda, subaguda y crónica, y abortos en diferentes especies animales (Stanchi, 2007). Las diversas especies de salmonelas se transmiten por contacto tanto con enfermos como con portadores sanos, aunque por lo general la enfermedad producida por este agente microbiano tiene origen alimentario debido a la ingesta de alimentos contaminados con el patógeno, teniendo en cuenta que la fuente de contaminación ambiental es invariablemente la materia fecal (CDC, 2007; Stanchi 2007).

2.2.3 Caracterización morfológica y bioquímica

Lo miembros del género *Salmonella* son bacilos cortos gramnegativos, de 0.7 – 1.5 x 2.0-5 μm , no esporulados, generalmente móviles por flagelos peritricos (excepto *S. Gallinarum*), son anaerobios facultativos, oxidasa negativos (Caffer M. y Terragno R., 2001). Los miembros del género crecen en un amplio abanico de temperaturas (7-48°C), a un pH entre 4 y 8, y con actividades de agua por debajo de 0.93, haciéndolo de forma rápida en medios de cultivo comunes en atmósferas tanto aeróbicas como anaeróbicas (Vadillo *et al*, 2003). No fermentan la lactosa (excepto *S.enterica* subesp. *arizonae* y *S.enterica* subesp. *diarizonae*), fermentan glucosa con producción de gas (excepto *S.Typhi*); no producen indol; no degradan urea; descarboxilan lisina y ornitina (Caffer M. y Terragno R., 2001).

Estudios de DNA mediante técnicas de hibridación mostraron que el género *Salmonella* está constituido por dos especies: *Salmonella entérica* y *Salmonella bongori*. *Salmonella entérica* está compuesta por seis subespecies: *Salmonella entérica* subesp. *enterica*, *Salmonella entérica* subesp. *salamae*, *Salmonella entérica* subesp. *arizonae*, *Salmonella* subesp. *diarizonae*, *Salmonella entérica* subesp. *houtenae* y *Salmonella entérica* subesp. *indica*.

2.2.4 Estructura antigénica

La estructura antigénica de *Salmonella* sp. es similar a la de otras enterobacterias, contando con la presencia de dos clases de antígenos principales: Antígenos O (somáticos) y antígenos H (flagelares). En algunas cepas se encuentra un tercer tipo de antígenos de superficie, análogo funcionalmente a los antígenos K (capsulares) de otros géneros. Al estar este antígeno relacionado con la virulencia de las cepas se le denomina antígeno Vi (Koneman y Allen, 1999), que puede interferir con la aglutinación por antisueros O y que se relacionan con invasividad (Jawetz *et al*, 2005).

Ag Somático (O de pared celular): Es un polisacárido, termoestable, tipo-específico, que se halla en todas las especies (Stanchi 2007). Se distinguen dos clases: *mayores* (determinantes del serogrupo) y *menores* (se hallan en algunas Salmonelas y serogrupos de éstas), son compartidos por diferentes serovares y no determinan los serogrupos (Stanchi 2007), aunque existen numerosos antígenos O, son los factores O principales los que sirven para caracterizar los diferentes tipos antigénicos. (Por ejemplo O4: se refiere al grupo B, O9: Grupo D, entre otros) (Muñoz *et al.*, 2002). El complejo de antígenos O determina el subgrupo somático al que pertenecen los géneros *Salmonella* sp., *Arizona* sp., *Citrobacter* sp., *Escherichia* sp., *Providencia* sp. *Serratia* sp., entre otros (Bailey y Scott, 1982).

Ag flagelar (H). Es proteico y termolábil, constituido por flagelina, cuya composición en aminoácidos es constante para un tipo antigénico determinado (Bailey y Scott, 1982). Por lo general, los microorganismos que tienen este antígeno, poseen dos fases diferenciales por medio de aglutinación en tubo de ensayo (Terrango *et al.*, 2003 y Stanchi, 2007); esto depende de dos genes estructurales que corresponden a la fase 1 y a la fase 2 que hacen referencia a estados motiles y no motiles de la bacteria.

En el primer caso (H1), lo más relevante es que se trata de un Ag específico de especie (según Kauffman y White) y su síntesis reside en el gen *hag1*, que sólo se expresa durante las primeras 24 h del crecimiento, en lo que se refiere al H2, es compartido por varias especies de *Salmonella* y el gen que codifica para su producción es el *hag2*, el mismo que se manifiesta a partir de las 24 h posteriores al inicio del desarrollo. La mayoría de las cepas del género *Salmonella* pueden expresar las dos especificidades de su antígeno H (difásicos); sin embargo, existen algunas que logran expresar solamente uno (monfásicos) (Parra *et al.*, 2002). Cada *Salmonella* sp. expresa alternativamente estos dos tipo de antígenos mediante un mecanismo denominado “cambio de fase” (Smith *et al.*, 1952 y Quinn *et al.*, 2002).

Ag capsular (K): Es un antígeno termolábil aunque existen pocas excepciones (Bailey y Scott, 1982); es llamado en *Salmonella* el Ag (Vi), que protege a la bacteria dándole resistencia antifagocítica. La presencia de este antígeno hace imposible la aglutinación de sueros anti O, debido a que recubre toda la bacteria; en este caso, la cepa en estudio debe ser sometida a un calentamiento a 100°C durante 30 minutos, a fin de desnaturalizar dicha cubierta y luego poder realizar la prueba de aglutinación de Ag somático correspondiente (Terragno *et al.*, 2003 y Stanchi, 2007). De allí que la expresión de este factor depende de al menos dos genes (ViA + ViB), siendo necesario que existan los dos en la bacteria para que la expresión tenga lugar (Parra *et al.*, 2002).

2.2.5 Factores de virulencia

Para *Salmonella* sp. se conocen varios factores de virulencia, entre ellos a endotoxinas, citotoxinas, enterotoxinas, antígenos de superficie y factores que contribuyen a la invasividad, las enterotoxinas que son sustancias liberadas al intestino y que ocasionan síntomas gastrointestinales como cólico y diarrea, las endotoxinas que hacen parte de la membrana externa de la bacteria y cuya actividad biológica está asociada con los lipopolisacáridos (LPS) y por último, las citotoxinas que están asociadas con la superficie celular, las cuales inhiben la síntesis proteica en la célula hospedadora y pueden estar implicadas en la adherencia a las células epiteliales, constituyendo esta última un segundo factor de virulencia de *Salmonella* sp. (Madigan *et al.*, 1997, Salyers y Whitt, 2002).

También se ha descrito en algunas subespecies de *Salmonella* (*S. typhimurium*) la formación de pseudópodos en la célula hospedera, lo que trae como resultado la internalización de la bacteria en vesículas endocíticas; adicionalmente, la producción de adhesinas que incluyen fimbrias codificadas por el plásmido de virulencia pSLT, permiten la unión de la bacteria a las microvellosidades de los enterocitos, fimbrias polares largas que se encargan de la unión de la bacteria a las placas de Peyer, y las fimbrias agregativas delgadas llamadas *curli* que también pueden estar implicadas en la unión a las vellosidades de los enterocitos (Madigan *et al.*, 1997, Salyers y Whitt, 2002).

Otros factores relacionados con la adherencia son los polisacáridos de superficie celular (O) y el antígeno Vi, un polisacárido capsular compuesto de ácido N-acetilglucosaminurónico el cual ayuda a prevenir la fagocitosis, las cepas negativas para el antígeno Vi son menos infecciosas y virulentas que las positivas para este antígeno (Parry *et al.*, 2002).

La respuesta de tolerancia al ácido, es otro aspecto importante de la virulencia de *Salmonella* sp. lo que le permite a la bacteria atravesar el ambiente ácido del estómago, requisito necesario para la infección (Salyers y Whitt, 2002).

Todos los serotipos de *Salmonella* sp. conocidos son patogénicos para el hombre y los animales (Parker y Collier, 1990); por lo tanto, constituyen un problema de salud pública que afecta a numerosas personas y animales (Martínez *et al.*, 2010). Estas infecciones se reconocen como zoonosis, ya que uno de los reservorios más importantes es el tubo digestivo de ciertos animales de sangre fría y algunos de sangre caliente (Wordward *et al.*, 1997). La virulencia de la bacteria se relaciona con su capacidad de invadir las células hospedadoras, replicarse en su interior y resistir tanto la digestión por los fagocitos como la destrucción por la acción del complemento, lo cual facilita la difusión de las salmonelas en el organismo del hospedador (Smith *et al.*, 1952; Henrici, 1999 y Quinn *et al.*, 2002).

El complejo proceso de invasión es mediado por los productos de la expresión de varios genes cromosómicos, mientras que la capacidad de crecer en el interior de las células hospedadoras depende de la presencia de plásmidos de virulencia (Smith *et al.*, 1952; Quinn *et al.*, 2002; Vadillo *et al.*, 2002). Algunos factores que determinan el carácter patógeno de ciertas especies del género *Salmonella* se conocen, al menos parcialmente, y se encuadran en las que se denominan genéricamente Islas de Patogenicidad (o grupos de genes relacionados con la virulencia) que se encuentran en organismos patógenos pero que están ausentes o solo presentes esporádicamente en las especies saprófitas (Vadillo *et al.*, 2002; Terragno *et al.*, 2003).

La *Salmonella* sp. cuenta con cinco islas de patogenicidad, tres de ellas conteniendo genes de virulencia (Salyers y Whitt, 2002):

Isla de patogenicidad de *Salmonella* 1 (SPI1): Se encuentra presente en *S. bongori* y todas las serovariedades de *S. enterica*, se cree que pudo haber sido adquirida en la evolución temprana de *S. enterica* por transferencia de genes, de manera horizontal. La *Salmonella* presenta múltiples genes involucrados en la invasión, localizados en el centisoma 63 que forma la SPI-1; se trata de un segmento de 35-40kb (kilobase) que contiene 31 genes que pueden ser divididos en categorías que incluyen: genes *inv* responsables de la internalización de las células, estos genes así como otros de la misma isla de patogenicidad (*spa*, *prg* y *org*) codifican para un sistema de secreción tipo III; genes que codifican proteínas que son inyectadas en la célula eucariótica por este tipo de sistema de secreción, como por ejemplo el gen *sptP* que codifica para una tirosina fosfatasa que altera las señales de transducción en células de la mucosa, produciendo diarrea. De igual forma posee genes involucrados en la regulación de genes de virulencia (*hila*, *invF*, *sira* y *phoPQ*), algunos de los cuales controlan la expresión de genes localizados en otras partes del cromosoma de la bacteria. A diferencia de otras islas de patogenicidad de *S. enterica*, SPI-1 no está localizada inmediatamente adyacente a genes tARN. Contiene un ADN estable que se requiere para la invasión de las células no-fagocíticas permitiendo que las salmonelas invadan los tejidos del intestino después de una infección oral. SPI-1 induce la apoptosis de los macrófagos, y divide a dos citoquinas pro-inflamatorias o interleuquinas (IL) IL1 β y IL18. Ambos eventos permiten que las salmonelas interiorizadas por los macrófagos atraigan a nuevos fagocitos; así se forma un foco inflamatorio donde aumenta la replicación de las salmonelas en el espacio intercelular y estos bacilos libres son ingeridos por los fagocitos recién llegados. Sólo a través de la apoptosis *Salmonella* es capaz de producir nuevos focos inflamatorios. Los genes contenidos en esta isla parecen ser importantes en las etapas iniciales de la infección en la cual las bacterias invaden las células de la mucosa.

Isla de Patogenicidad de *Salmonella* 2 (SPI2): Codifica un sistema de secreción tipo III, diferente al codificado por la isla SPI-1, usado por la bacteria al interior del fagosoma para evitar la fusión fagosoma-lisosoma; también codifica las proteínas que inyecta a la célula eucariótica.

Las funciones moleculares de la SPI-2 no han sido caracterizadas con tanto detalle como las de la SPI-1. Las mutantes en dicha isla son severamente atenuadas en las infecciones sistémicas al ser inoculadas orales o intraperitonealmente. SPI-2 está dividida en dos segmentos, los cuales se obtuvieron en diferentes eventos de transferencia horizontal: la porción más pequeña es de 14.5 kb, contiene un grupo de cinco genes *ttr* involucrados en la reducción del tetratoato y 7ORFs con función desconocida, está presente en *S. bongori* y parece que no interviene significativamente en la infección sistémica; la porción mayor de 25, 3kb, está presente únicamente en *S. enterica* serovar *Gallinarum* y *S. enterica* serovar *Typhi* las regiones de SPI-2 están duplicadas.

Esta isla de patogenicidad parece tener mayor importancia en la fase sistémica de la infección (Pangueroa y Verdugo, 2005; Adelantado *et al.*, 2008).

Isla de Patogenicidad de Salmonella 3 (SPI3): Codifica un transportador de Mg^{2+} de alta afinidad, el cual puede ser de importancia en la supervivencia de la célula al interior de fagosomas, provee productos esenciales para el crecimiento en condiciones limitadas de Mg^{2+} sistema de absorción que se necesita para la adaptación a las limitantes nutricionales del hábitad intrafagosomal. No codifica sistema de secreción. Su tamaño es de 17kb y tiene un porcentaje de G+C del 39.3%; está localizada en el centisoma 82 inmediatamente adyacente al gen tARN *selC*. Entre otros determinantes de virulencia putativos encontramos a MISL (similar a AIDA-I *autotransformer*) y Mart (similar a *Vibrio cholerae* ToxR). SPI-3 se conserva entre *S. enterica Typhi* y *Typhimurium*. Los análisis de la distribución de SPI-3 en varias subespecies y serotipos reveló unas amplias variaciones en la estructura de SPI-3, que van desde supresiones a las inserciones de grupos de genes adicionales estos adyacentes a *selC*, mientras que una porción que contiene *mgtCb* y varios otros genes parecían ser conservadas en diversos aislamientos. También se detectó en la secuencia del genoma de *S. bongori*. Los genes en el centro región de SPI-3 se encuentran flaqueadas por los restos de elementos IS lo que indica una inserción de diferente PAI en este locus y en varios patógenos indican que *selC* se integra a elementos extraños de ADN (Parra *et al.*, 2002).

Isla de Patogenicidad de Salmonella 4 (SPI4): El rol de SPI-4 no ha sido analizado en detalle pero codifica un supuesto tipo I que media la secreción de toxinas y se cree que participa en la adaptación de *Salmonella* al medio ambiente intracelular en los macrófagos, es de 27 kb y está compuesta por 18 genes localizados en el centisoma 92. Aparece entre varios serotipos de *S. entérica* (Adelantado *et al.*, 2008).

Isla de Patogenicidad de Salmonella 5 (SPI5): No se conoce su función. Es de 7.5 kb se encuentra localizada en el gen tARN *serT*, centisoma 20; su porcentaje de G+C es de 43.6%. Codifica proteínas efectoras involucradas en la secreción fluida y reacción inflamatoria en la mucosa intestinal, como SopB (SigD) que además de estimular la secreción de cloro, se encuentra involucrada en el flujo de macrófagos para su secreción utiliza el SSTIII de la SPI-1. Otras proteínas codificadas en esa isla son: Mart con secuencia similar a ToxR, proteínas reguladora de *V. cholerae*, las mutantes se ven afectadas en su capacidad para producir salmonelosis entérica pero no salmonelosis entérica sistémica y PipA que es secretada y trasladada vía el SSTIII de SPI-2 (Adelantado *et al.*, 2008; Pachón, 2009). El *sopB*, *pipC*, *pipB* y *pipA*, están contenido dentro de la misma unidad transcripcional cuya expresión es regulada por *SsrAB*.

Las células blancas revisitan el último tramo del intestino delgado y el primer tramo del intestino grueso; si la célula blanco está “libre” con respecto al número de salmonelas, es posible que se produzca una enfermedad. Los microorganismos del género *Salmonella* segregan exotoxinas, las cuales una vez adheridas a las células de la mucosa, penetran por un mecanismo semejante a la fagocitosis e invaden el epitelio y la lámina propia, donde se multiplican y producen una reacción inflamatoria y determinan que la enfermedad generada sea diarrea o septicémica. Las cepas que producen diarrea se multiplican, segregan una toxina semejante a la toxina LT (termolábil) que altera la síntesis de los nucleótidos cíclicos, haciendo que el microorganismo invada la célula, ya en el interior, las *Salmonellas* segregan la citoxina que provoca la muerte celular y su desprendimiento de la mucosa intestinal, desencadenando un flujo de iones y líquido hacia la luz intestinal, lo que a su vez ocasiona diarrea (Pumarola *et al.*, 1987; Biberstein y Chung Zee, 1990; Hirsh, 2006). La gravedad de la enfermedad depende del número de células blanco afectadas (Blaser y Newman 1982; Biberstein y Chung Zee, 1990). Aproximadamente 10⁷ organismos viables son requeridos normalmente para el inicio de una gastroenteritis en humanos; en animales, se desconoce la dosis infectiva pero depende de la especie (Blaser y Newman, 1982); en animales, los síntomas de la enfermedad son dolor abdominal y diarrea acompañada de señales de muerte celular (sangre, restos de células y células inflamatorias) (Biberstein y Chung Zee, 1990).

Adicionalmente, es posible que las cepas que producen septicemia provoquen o no diarrea, destrucción de las células blanco, o ambas cosas. La acción de la enterotoxina se basa en la interrupción de la síntesis de proteínas provocando la muerte celular (Biberstein y Chung Zee, 1990). Los síntomas que se presentan, aunque no siempre, suelen ser septicemia y shock; las cepas que producen esta forma clínica de enfermedad eluden la destrucción por parte del hospedador y se multiplican en el interior de los macrófagos del hígado, bazo y también en el interior de los vasos sanguíneos (Hinton, 1971). Su destrucción en la corriente sanguínea se encuentra obstaculizada en parte por las unidades repetitivas del antígeno O del LPS, posiblemente porque se impide la unión entre el complejo de ataque a la membrana del sistema del complemento y la membrana externa de la bacteria (Barrow y Lovely, 1991).

Las cepas de *Salmonella* sp. son relativamente hidrófilas, debido en parte a la fracción de carbohidratos del LPS que provoca su repulsión de la membrana de las células fagocitarias, la cual es relativamente hidrófoba; las salmonelas que son fagocitadas no son destruidas fácilmente porque en el animal el contenido de los lisosomas del macrófago no atacará con facilidad a las salmonelas que se encuentran en el interior del fagosoma, debido a que las bacterias sintetizan enzimas que tienen la capacidad de neutralizar las que son producidas por el fagosoma (Blaser y Newman, 1982; Biberstein y Chung Zee, 1990; Quinn *et al.*, 2002). La multiplicación del microorganismos origina una

endotoxemia, la cual explica la mayoría de los síntomas y el curso de la enfermedad (Stanich, 2007).

2.2.2 Género

Shigella

El género *Shigella* comprende 4 especies: *S.dysenteriae*, *S.flexneri*, *S.boydii*, *S.sonnei*, a veces denominadas subgrupos A, B, C y D, respectivamente, que se diferencian por una combinación de características bioquímicas y serológicas. Cada especie tiene varios serotipos: *S. dysenteriae* (serogrupo A, trece serotipos), *S. flexneri* (serogrupo B, seis serotipos), *S. boydii* (serogrupo C, 18 serotipos) y *S. sonnei* (serogrupo D, un serotipo). El serotipo esta determinado por los lipopolisacáridos de la pared celular (antígenos O).

S.flexneri es la especie endémica y es responsable de aproximadamente el 10% de todos los episodios de diarrea entre los niños menores de cinco años. *S.dysenteriae* tipo epidémico y primer tipo de causa endémico de la enfermedad, mientras que, en los países desarrollados, *S. sonnei* es predominantemente implicado en brotes esporádicos de origen común. *S. boydii*, fue detectado por primera vez en la India y hasta ahora ha sido poco común encontrar, excepto en el subcontinente indio (Niyogi, 2005). A excepción de *S.sonnei*, cada especie contiene múltiples serotipos basados en la estructura del antígeno O y al menos 49 serotipos de *Shigella* han sido reconocidos, representando subtipos de tres de los cuatro grupos; de los cuales 15 pertenecen a *S. flexneri* (Simmons y Romanowska, 1987; Bopp *et al.*, 2003).

La shigelosis es endémica en todo el mundo y es una de las causas más comunes de las enfermedades diarreicas bacterianas. Es responsable de aproximadamente 165 millones de casos al año, de los cuales 163 millones se encuentran en países en desarrollo y 1,5 millones en los industrializados. Se estima que 1,1 millones de personas mueren anualmente de infección por *Shigella* y cerca de 580,000 casos de shigelosis se reportan entre los viajeros de los países industrializados (Kotloff *et al.*, 1999). Aunque la epidemia de disentería por *Shigella* es la manifestación más grave de la infección por *Shigella* en los países en desarrollo, la mayoría de las infecciones por *Shigella* se deben a la shigelosis endémica (Díaz *et al.*, 2000).

La disentería grave se caracteriza por fiebre, calambres abdominales y heces con sangre y mucosas agudas permanentes. Estos síntomas reflejan en gran medida la invasión bacteriana de la mucosa del colon y del recto, que provoca la inflamación aguda que lleva a la destrucción de la mucosa masiva. Estas complicaciones abarcan hipoglucemia, bacteremia o septicemia con un posible choque séptico, la deshidratación debido a la fiebre y la diarrea aguda que lleva a la hipovolemia e

insuficiencia renal aguda, síndrome urémico hemolítico (insuficiencia renal aguda compleja que conduce más a menudo a muerte en ausencia de reanimación) y megacolon tóxico (un síndrome de parálisis que lleva a la oclusión intestinal inferior, posiblemente acompañado de perforación y peritonitis). En los países en desarrollo, la disentería bacilar es reconocida como una de las principales causas de malnutrición (Khan *et al.*, 2004). A diferencia de otras infecciones entéricas como el cólera, la disentería bacilar no se beneficia de rehidratación oral solo. Los tratamientos con antibióticos son eficaces, aunque la resistencia a múltiples fármacos es ahora prevalente en Asia, África o América del Sur, una de las principales preocupaciones, en particular, para *S. flexneri* y *S. dysenteriae* 1 (Khan *et al.*, 2004; Chuang *et al.*, 2006).

2.2.3 Caracterización morfológica y bioquímica

Las bacterias del género *Shigella*, de la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos cortos gramnegativos sin agrupación que miden 0.7 μm por 3 μm , inmóviles, no esporulan ni presentan cápsula y su DNA alcanza una similitud de hasta 70-75% en relación con el de *Escherichia coli*, lo cuál indica una gran relación con esta última especie (Molina y Uribarren, 2016). Anaerobios facultativos, oxidasa negativo, fermentan la glucosa y otros azúcares sin producción de gas, rojo metilo positivo. La temperatura de crecimiento óptima es 37°C y pH de 7.6 a 7.8 (Terragno *et al.*, 2007).

2.2.4 Estructura antigénica

Las shigellas presentan un complejo patrón antigénico, carecen de antígenos H. Son antigénicamente heterogéneas, pues las diferentes especies presentan reacciones cruzadas entre ellas y la mayoría comparten antígenos O con otros bacilos entéricos. Químicamente hablando, este antígeno es un lipopolisacárido, pero la especificidad serológica depende de la porción de polisacárido, se han descrito más de 40 serotipos (Romero, 2007).

2.2.5 Factores de virulencia y patogenesis y patogenicidad

Los principales factores de virulencia de estos microorganismos son sus propiedades invasivas y toxicogénicas, aunque el papel desempeñado por la toxina está todavía por dilucidar, ya que las cepas toxicogénicas pero no invasivas no producen enfermedad en los monos. Por el contrario, las variantes invasivas pero no toxicogénicas, son causa de enfermedad, aunque de carácter menos grave que la que se produce con cepas que poseen ambas capacidades (Vadillo, 2002).

Las infecciones por enterobacterias del género *Shigella* causan disentería, diarrea sangrienta severa.

Disentería se caracteriza por una inflamación aguda del colon con la erosión de la mucosa (Hale, 1991; Ménard *et al.*, 1996). El desarrollo de la shigelosis requiere la penetración de bacterias a través de la barrera del epitelio intestinal a través de las células M. Al llegar a los folículos linfoides subyacentes, las bacterias son engullidas por los macrófagos residentes (Perdomo *et al.*, 1994; Wassef *et al.*, 1989). Una vez dentro de un macrófago, *Shigella* escapa del fagosoma en el citoplasma y mata a esta célula mediante la inducción de la apoptosis (Zychlinsky *et al.*, 1992). Lo que liberan los macrófagos al morir permiten la maduración de interleucina-1 β (IL-1 β) (Zychlinsky *et al.*, 1994) e IL-18 (Sansoneetti *et al.*, 2000), dos citoquinas importantes en la iniciación de la inflamación (Sansoneetti *et al.*, 1995). *Shigella* también invade las células epiteliales a través de endocitosis patógeno-dirigida (Ménard *et al.*, 1996). La invasión de los enterocitos y la proparagación bacteriana de célula a célula mejora aún más el daño tisular (LaBrec, 1964 y Sansoneetti *et al.*, 1989).

Los antígenos plásmidos invasión *Shigella* B (IpaB), IpaC, y el IpaD son necesarios para la entrada en la célula epitelial y de escape fagosoma (High *et al.*, 1992 y Ménard *et al.*, 1996). Sin embargo, sólo IpaB es suficiente para activar la apoptosis de macrófagos (Chen *et al.*, 1996). Las proteínas Ipa interactúan con las células del huésped al ser secretadas por un aparato de secreción de tipo III (Ménard *et al.*, 1994). En el citoplasma de los macrófago, IpaB se une a la caspasa-1 (Casp-1 conduce a la apoptosis de los macrófagos por una vía todavía mal definida (Hilbi *et al.*, 1997 y Zychlinsky *et al.*, 1994). Casp-1-deficiente resistencia a los macrófagos a la muerte celular inducida por *Shigella* demuestra que Casp-1 es esencial para este proceso (Hilbi *et al.*, 1998).

IpaB contiene una región hidrófoba (aminoácidos [aa] 310-430) que contiene dos dominios que abarcan la membrana putativa (aa 313-346 y 400-423) (Baudry *et al.*, 1988). IpaB es homóloga a la proteína de la invasión de *Salmonella* B (SipB) y de la proteína B *Yersinia* exterior (YopB). La similitud de IpaB a estas proteínas es particularmente alta en la región hidrófoba (identidad 65 y 30% a SipB y YopB, respectivamente) (Hakansson *et al.*, 1993 y Kaniga *et al.*, 1995). Curiosamente, SipB se requiere para la invasión de *Salmonella* de células epiteliales (Hermant *et al.*, 1995, Hueck *et al.*, 1995, Kaniga *et al.*, 1995) e interactúa con Casp-1 para activar la apoptosis de macrófagos (Hersh, 1999). A diferencia de IpaB y SipB, YopB no es la molécula efectora de la apoptosis inducida por *Yersinia* (Mills *et al.*, 1997 y Monack *et al.*, 1997), y su función sigue siendo controvertido (Hakansson *et al.*, 1996, Lee *et al.*, 1999).

En la pared celular *Shigella* posee peptidoglicano y en la membrana externa, que es una bicapa de fosfolípidos, contiene proteínas, lipoproteínas y lipopolisacárido (LPS) (Romero, 2007). El lipopolisacárido (LPS) es un componente de superficie principal de bacterias gramnegativas. En combinación con las proteínas, fosfolípidos, lipoproteína, antígeno común enterobacteriano, y antígenos

capsulares (a menudo polisacáridos), LPS forma la membrana externa de la envoltura celular bacteriana gramnegativa (Lindberg *et al.*, 1991). La membrana externa es asimétrica con los LPS, de alto peso molecular anfifílicos ubicados exclusivamente en la superficie.

Como una estructura de superficie, LPS interactúa con el anfitrión; albergan sistemas de defensa y reconocen a una bacteria por las respuestas inmunitarias provocadas a su LPS. Por lo tanto, el LPS es un antígeno de superficie inmunoreactivo. Sin embargo, LPS que entra en el anfitrión también causa un amplio espectro de reacciones fisiopatológicas no específicos, conocidos como reacciones endotóxicas. Estas reacciones incluyen fiebre, hipotensión, leucopenia seguido por leucocitosis y la coagulación intravascular diseminada (Lindberg *et al.*, 1991).

Algunas veces estas reacciones conducen a un choque irreversible que da como resultado un desenlace fatal. En estudios experimentales con el uso de LPS de diferentes bacterias gramnegativas, los mismos efectos inflamatorios agudos han sido provocados. Esto ha llevado al concepto de que los LPS liberados de la multiplicación de las bacterias y de desintegración significativamente contribuyen a los síntomas de la septicemia. Por consiguiente, el LPS es un factor importante en la patogenicidad de las infecciones debidas a bacterias gramnegativas. Además de producir efectos nocivos, el LPS también juega un papel en la relación fisiológica entre el huésped y parásito. LPS estimula las células B policlonal para diferenciar, proliferar, y secretar inmunoglobulinas, y la activación de macrófagos por LPS potencia la citotoxicidad y la fagocitosis (Lindberg *et al.*, 1991). LPS también actúa como mitógeno para fibroblastos. Estas actividades a menudo denominados procesos que inducen resistencia no específica a la infección.

El lipopolisacárido consta de un segmento lipídico hidrofóbico ligado covalentemente a un polisacárido hidrofílico. El segmento lipídico es llamado lípido A y el segmento polisacárido consiste en un pequeño núcleo ligado a unidades repetidas de dos a seis residuos de azúcar (cadena de polisacárido antigénico O) (Romero, 2007). La estructura primaria del lípido A de las enterobacterias se ha elucidado en gran detalle. La estructura del lípido A de *Escherichia coli* planteaba de un B-D-glucosaminy-A-D-glucosamina disacárido, que está fosforilada en la posición O-1 del residuo de glucosamina reductora de R-3- hidroxí ácidos grasos en las posiciones O-2, O-3, O-2', y O-3' (Lindberg *et al.*, 1991). El núcleo está unido a la posición O-6 del residuo de glucosamina reductor. La invasión de las células epiteliales de la mucosa instestinal por *Shigella* comienza cuando ésta cruza inicialmente la capa epitelial a través de las células M que sobreponen folículos linfoides asociados a la mucosa colo-rectal. Las células M son células epiteliales especializadas (CE) en el epitelio del folículo-asociado (FAE) capaz de transitar antígenos lumbinales en el espacio sub-epitelial para el procesamiento por las células fagocíticas y la presentación al tejido linfoide asociado al intestino, lo que lleva a la generación de una respuesta inmune específica (Phalipon y Sansonetti,

2005). Desde este punto de entrada, *Shigella* interactúa con (1) los macrófagos residentes y células dendríticas (DC) presentes en la cúpula del folículo linfoide, e (2) intestinal CE (IEC) a través de su polo basolateral. La consecuencia es la inducción de la producción de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias que inician el proceso inflamatorio, que lleva a úlceras aftas como úlceras inflamatorias que sobrepone los folículos linfoides rectales (Mathan y Mathan, 1991). La inflamación, acompañado de una invasión bacteriana, luego se extiende progresivamente a implicar una gran parte de la superficie de la mucosa, sino que permanece confinado en el intestino grueso (Speelman *et al.*, 1984). La propagación de la inflamación en todo el intestino provoca inicialmente edema, eritema y la producción de un exudado mucopurulento adherente, seguido por la formación de abscesos y hemorragias de la mucosa.

La infección por *Shigella* representa un interesante paradigma de desequilibrio de los mecanismos inmunes del huésped que regulan la inflamación, y de las estrategias bacterianas desarrolladas de escapar matando por las células inmunitarias del huésped que están equipadas con un gran repertorio de armas anti-microbianas para controlar la infección microbiana.

2.2.2 Género

Klebsiella spp.

La primera mención de una especie del género *Klebsiella* fue realizada por Von Frisch en 1881, el cual se refirió a un bacilo capsulado observado en muestras de pacientes con rinoscleroma. El género *Klebsiella* como tal fue denominado por Trevisan en 1885, en honor al microbiólogo alemán Edwin Klebs (1834-1913) (Lázaro, 2003). Los microorganismos del género *Klebsiella* son bacilos gramnegativos inmóviles que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* (Vadillo, 2002).

Es ubicua en la naturaleza, tiene dos hábitats comunes: el medio ambiente, en el cual se halla en aguas superficiales y residuales, en el suelo y sobre las plantas; y las superficies mucosas de mamíferos. En humanos portadores de *K.pneumoniae* se encuentra en las vías respiratorias superiores y en el tracto intestinal (Podschun y Ullmann, 1998).

Las bacterias que pertenecen al género *Klebsiella* con frecuencia causan infecciones nosocomiales en los humanos. La especie más importante, médicamente hablando, es *Klebsiella pneumoniae*; la cual representa una proporción significativa de las infecciones nosocomiales del tracto urinario, neumonía, septicemias e infecciones de tejidos blandos (Podschun y Ullmann, 1986). Un grado menor de importancia lo ocupa *K. oxytoca*, la cual también se ha aislado de muestras clínicas humanas. Su incidencia del 5 al 7% de todas las infecciones adquiridas en el hospital les sitúa entre los patógenos nosocomiales más importantes.

4.2.3 Caracterización morfológica y bioquímica

La taxonomía de *Klebsiella* se caracteriza por una nomenclatura que refleja su colorida historia taxonómica.

Originalmente (familia *Enterobacteriaceae*) llevó a que está subdividido en tres especies correspondientes a las enfermedades que causaron: *K. pneumoniae*, *K. ozaenae*, y *K. rhinoscleromatis*. Como la taxonomía se hizo cada vez más refinada debido al desarrollo de nuevos métodos tales como la taxonomía numérica, la clasificación de especies en este género fue revisado continuamente. Con el tiempo, surgieron tres clasificaciones principales, las de Cowan, Bascomb y Orskov.

La clasificación de Cowan (Cowan *et al.*, 1960) indica que el género *Klebsiella* está formado por varias especies, entre las que se encuentran *K.pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. planticola* y *K. terrigena*. Mientras que la clasificación de Orskov (Orskov, 1984) señala que el género *Klebsiella* está formado por: *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *K.terrigena*, *K.planticola* (sin *K.trevisanii*), *K.ornithinolytica*, esta clasificación suele ser empleada por la mayoría de los países europeos y Estados Unidos; por lo tanto, es la más extendida a nivel mundial.

A principios de la década de 1980, *Klebsiella* fue aislada del medio ambiente, que previamente había sido clasificado como “organismos de *Klebsiella* como (grupos J, K, L y M), fueron cada vez clasificados en taxones de modo provisional (Gavini *et al.*, 1977). Estos grupos dieron lugar a cuatro especies nuevas: *K. terrígena* (Izard *et al.*, 1981), *K. ornithinolytica* (Sakazaki *et al.*, 1989), *K.planticola* (Bagley *et al.*, 1981), y *K. trevisanii* (Ferragut *et al.*, 1983). En 1986, las dos últimas especies se combinaron en una especie, *K. planticola*, debido a su extensa homología de secuencia de ADN (Gavini *et al.*, 1986). Aunque originalmente considerado sin importancia clínica y restringida a acuático, botánico, y ambientes de sueños, *K.terrigena* y *K. planticola* recientemente se han reportado como ocurre en muestras clínicas humanas (Mori *et al.*, 1989; Podschun y Ullmann, 1992; Podschun y Ullmann, 1994). De acuerdo con estos hallazgos, particularmente *K. planticola* se ha aislado de infecciones humanas con una sorprendentemente alta frecuencia de 3.5 a 18.5% entre los aislados clínicos de especies de *Klebsiella*.

Crece muy bien en medios de cultivo ricos en nutrientes, como el agar sangre y el agar chocolate, así como en los medios propios de enterobacterias (agar de MacConkey). Los microorganismos se identifican mediante el empleo de pruebas bioquímicas habituales de laboratorio, aunque se suelen utilizar sistemas de pruebas múltiples, como el API 20E. Las cepas de *K. pneumoniae* son resistentes a la ampicilina, si bien la mayoría de ellas suele ser sensible a los antibióticos beta-lactámicos más recientes, los aminoglucósidos y las fluoroquinolonas. Se recomienda el empleo del

antibiograma, debido a la presencia de plasmidos de resistencia a los antibióticos en algunas cepas (Vadillo, 2002).

2.2.4 Estructura antigénica y factores de virulencia

La capa más externa de *Klebsiella spp.* está formada por una gran cápsula de polisacáridos que diferencia a estos microorganismos de otros géneros de esta familia. Los factores de virulencia de este género son: la cápsula, que es un factor antifagocitario y las endotoxinas de pared, como los otros bacilos de esta familia (Romero, 2007). Los miembros del género *Klebsiella* típicamente expresan dos tipos de antígenos en su superficie celular, el primero es un lipopolisacárido (antígeno O); el otro es un polisacárido capsular (K antígeno).

Hay un total de 77 antígenos K y 9 antígenos O. La variabilidad estructural de estos antígenos forma la base para la clasificación en diversos serotipos. La virulencia de todos los serotipos parece similar (Qureshi, 2015).

2.2.5 Patogenesis y patogenicidad

Las infecciones nosocomiales por *Klebsiella* son generalmente producidas por *Klebsiella pneumoniae* (Montgomerie y Ota, 1980; Weinstein *et al.*, 1983), la especie más importante del género desde el punto de vista médico y están asociadas a una alta morbilidad y mortalidad. Se estima que el género *Klebsiella* es el responsable del 8% de las infecciones nosocomiales bacterianas en los Estados Unidos y en Europa, lo cual lo sitúa entre los ocho patógenos infecciosos más importantes en hospitales (Lázaro, 2003).

Clásicamente se ha relacionado a *Klebsiella ozaenae* y *Klebsiella rhinoscleromatis* exclusivamente con procesos inflamatorios crónicos de vías aéreas (ozena y rinoscleroma) (Berger *et al.*, 1977). No obstante, en los últimos años, las diferentes especies del género han sido aisladas de infecciones urinarias (Berger *et al.*, 1977; Goldstein *et al.*, 1978), neumonía (Goldstein *et al.*, 1978; Power y Calder, 1983), meningitis (Lewis y Alexander, 1979), infección de tejidos blandos (Murray *et al.*, 1981), mastoiditis (Goldstein *et al.*, 1978) y bacteremia (Berger *et al.*, 1977; Lewis y Alexander, 1979; Murray *et al.*, 1981; Smith *et al.*, 1984; García de la Torre *et al.*, 1985).

El poder patógeno de esta bacteria (*K.pneumoniae*) se basa en el desarrollo de una cápsula, la cual actúa como factor determinante de su virulencia, y de acuerdo con sus determinantes antigénicos se puede clasificar en 77 serotipos diferentes. La cápsula protege al microorganismo de la fagocitosis por parte de los polimorfonucleares (Simoons-Smit *et al.*, 1986) y de los factores bactericidas

séricos (Williams *et al.*, 1985), inhibiendo la activación del complemento, especialmente del C5b (Williams y Tomas, 1990). Se han descrito algunos tipos capsulares más virulentos que otros, como por ejemplo los K1, K2, K4 Y K5 (Simoons-Smit *et al.*, 1984). La primera etapa en el proceso infeccioso es la adherencia del agente a las células del hospedero, función que en el caso de las enterobacterias es desempeñada por unas proyecciones filamentosas de la superficie bacteriana llamadas *pilis*, de las cuales existen dos tipos predominantes en *Klebsiella spp*: el tipo 1 y el tipo 3 (Old *et al.*, 1985; Przondo-Hessek y Pulverer, 1983). El tipo 1 está asociado en la patogénesis de las infecciones del tracto urinario (Iwahi *et al.*, 1983), adheriéndose a las células del túbulo proximal (Virkola *et al.*, 1988). Su adherencia a las células del tracto respiratorio afecta la resistencia a la colonización, lo cual conlleva a la proliferación de patógenos potenciales y puede conducir a neumonía, principalmente en pacientes con ventilación mecánica (Ayars *et al.*, 1982); el *pili* tipo 3 interviene en la adherencia a las células endoteliales y los epitelios del tracto respiratorio y urinario (Hornick *et al.*, 1992; Tarkkanen *et al.*, 1997). El mecanismo exacto de la resistencia a la inmunidad de los llamados factores séricos, y en este caso el relacionado con la activación del complemento, es desconocido; una posible explicación es el enmascaramiento del lipopolisacárido (LPS) de la bacteria por parte de la cápsula, de tal forma que exhibe una estructura que no activa el complemento (Merino *et al.*, 1992). El hierro es un elemento vital para el desarrollo bacteriano, y su disponibilidad en el ambiente del hospedero es muy limitado, pero muchas bacterias lo obtienen produciendo agentes quelantes llamados sideróforos que son capaces de tomarlo de las proteínas del hospedero. Existen varios tipos de sideróforos que se han reunido en dos grupos químicos diferentes, según produzcan enterobactinas y aerobactinas, las cuales, como se ha demostrado, son producidas por las especies del género *Klebsiella spp*. (Podschun *et al.*, 1992); también se ha descrito la producción de citotoxinas, enterotoxinas y hemolisinas, factores que en el caso de *Klebsiella spp*. parecen jugar un papel menor en su patogenicidad.

2.3 Diagnóstico

2.3.1 Aislamiento bacteriano

El aislamiento bacteriano consiste en la separación de un determinado microorganismo del resto que le acompañan, por medio de una siembra en estría sobre un medio de cultivo y conseguir aislar una colonia bacteriana con características determinadas en cuanto a su forma, borde, elevación, tamaño, consistencia (Morales, 2013; OIE, 2013).

4.3.2 Pruebas bioquímicas

Si bien existen una gran variedad de pruebas bioquímicas empleadas con fines de identificación bacteriana. La *prueba de la catalasa*, la catalasa es una enzima que cataliza la descomposición de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Se encuentra presente en la mayoría de los microorganismos aeróbicos y anaeróbicos facultativos. En cuanto a la interpretación tenemos que la prueba se considera positiva cuando se produce una efervescencia rápida con desprendimiento de burbujas. La *prueba de la oxidasa* (citocromo c oxidasa), en esta prueba los citocromos son enzimas que forman parte de la cadena de transporte de electrones en la respiración aeróbica, transfiriendo electrones al oxígeno, con la formación final de agua. Esta prueba se considera como positivo cuando el papel cambia de color pasando a púrpura y negro en un lapso de diez a veinte segundos, como consecuencia de que el reactivo se oxida en presencia de citocromo c oxidasa formándose azul de Wuster (INS, 2005; Morales, 2013).

Por otro lado tenemos la *Fermentación de azúcares*, esta prueba se suele usar en la identificación inicial de bacilos gramnegativos y especialmente de enterobacterias. En este estudio se observa la fermentación de lactosa y/o glucosa y/o sacarosa con producción de ácido y/o gas y la producción de H₂S, la producción de gas se evalúa en la fermentación por la aparición de burbujas, rotura o elevación del agar en el fondo del tubo (INS, 2005; Morales, 2013). La *Producción de SH₂*, lo cuál sirve para detectar la producción de H₂S a partir de tiosulfato sódico debe incorporarse al medio de cultivo un indicador, dado que el H₂S es incoloro. Para tal fin se suele utilizar alguna sal de hierro que reacciona con el H₂S, para producir un precipitado negro de sulfuro de hierro. La Producción de H₂S tiene lugar en ambiente ácido, de ahí que el precipitado negro se concentre en el fondo del tubo, donde se generan ácidos a partir de la glucosa (INS, 2005; Morales, 2013). La *Reducción de nitratos* consiste en la reducción de nitratos a nitritos, lo cuál es una característica propia de varios microorganismos que utilizan nitrato como aceptor final de electrones en la respiración anaeróbica. Esta prueba es útil en la identificación de microorganismos pertenecientes a las enterobacterias aunque también sirve para identificar otros microorganismos. La *Producción de indol*, se debe tener en consideración que el indol es uno de los productos de degradación del metabolismo del aminoácido triptófano. La presencia de la enzima triptofanasa en la bacteria provoca la hidrólisis del triptófano y su desaminación, produciendo indol, ácido pirúvico y amoníaco. La *Movilidad* se debe tener en consideración que la baja concentración de agar de este medio permite que las bacterias se desplacen si son móviles. Por ello, observando si el crecimiento está sólo en la picadura o se extiende a los lados de ella, se puede determinar si el microorganismo es inmóvil o móvil (INS, 2005; Morales, 2013). El *Crecimiento en citrato*, tenemos que saber que algunos microorganismos utilizan el

estrato presente en el medio de cultivo como única fuente de carbono, esta característica es importante en la identificación de microorganismos pertenecientes a las enterobacterias. La *Producción de ureasa*, es una enzima presente en numerosos microorganismos. Esta enzima cataliza la hidrólisis de la urea, con producción de dióxido de carbono y amoníaco, lo que causa una alcalinización del medio (INS, 2005; Morales, 2013).

2.3.3 Resistencia

La resistencia a antibióticos es uno de los aspectos de creciente interés tanto en la sanidad humana y animal como en la salud pública. La causa de la resistencia a antibióticos es natural; es decir, las propias bacterias han desarrollado mecanismos de adaptación, para inactivar las sustancias antibióticas producidas como elemento de defensa o estrategia competitiva con otros microorganismos. Por ello, el conocimiento de los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana debe orientar a la elaboración de esquemas de tratamiento más eficaces y además, la información proporcionada por la vigilancia debe servir de insumo para la elaboración de un programa de uso racional de antibióticos.

Las enterobacterias aisladas con mayor frecuencia en un laboratorio de Microbiología Clínica son *E.coli* y *Klebsiella spp.*, seguidas por *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.* y diferentes especies del grupo *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*. Estas especies, comensales del tubo digestivo del hombre y animales, causan toda infección oportunista en el hombre, con la excepción de algunos patogrupos de *E.coli* que son enteropatógenas (Bennett *et al.*, 2015).

El tratamiento de estas infecciones está basado fundamentalmente en la terapia con fármacos antimicrobianos (Bennett *et al.*, 2015). Existen diversos grupos de antimicrobianos con actividad frente a enterobacterias (Bennett *et al.*, 2015; Limbird *et al.*, 1996). El más utilizado es con betalactámicos, aunque muchas enterobacterias posean, como mecanismo de resistencia, betalactamasas cromosómicas (Prats, 2005; Navarro, 2002) o la posibilidad de adquisición de betalactamasas plasmídicas, hecho descrito por primera vez en el año 1965 para la TEM-1 en Atenas, de un aislado de *E.coli* proveniente de un paciente llamado Temoneira, y de ahí la designación de TEM (Paterson *et al.*, 2005; Datta *et al.*, 1965). En los últimos 20 años fueron diseñados muchos antibióticos con la finalidad de ser resistentes a la acción hidrolítica de las betalactamasas, pero con cada nueva clase de betalactámico que se utilizaba para tratar pacientes, surgía una nueva betalactamasa que confería resistencia al mismo (Navarro *et al.*, 2002).

Una de estas nuevas clases son las oximino-cefalosporinas, que fueron ampliamente utilizadas para el tratamiento de infecciones graves en la década de los 80. Como cabía esperar, la resistencia a estos betalactámicos de espectro ampliado no tardó en aparecer. La primera de estas enzimas

capaces de inactivar esta clase de betalactámicos, la SHV-2, fue encontrada en una cepa de *K. ozaenae* aislada en Alemania en 1983 (Knothe *et al.*, 1983; Kliebe *et al.*, 1985 y Paterson *et al.*, 2005). Debido al espectro incrementado de actividad, fueron llamadas betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (Kliebe *et al.*, 1985; Livermore *et al.*, 1996). La aparición de estas enzimas, junto con otras como las AMPc plasmídicas y las carbapenemasas capaces de inactivar además a las cefamicinas y a los carbapenémicos, respectivamente, hacen que los betalactámicos sean cada vez menos útiles a la hora de combatir infecciones, principalmente en el medio hospitalario (Navarro *et al.*, 2002; Paterson *et al.*, 2005).

Otro grupo de antimicrobianos utilizado frecuentemente para tratar infecciones producidas por enterobacterias es el de las quinolonas. Son un grupo de antimicrobianos semisintéticos, de los que caben destacar el ácido nalidíxico y las quinolonas fluoradas, como norfloxacin, ciprofloxacino y levofloxacino, especialmente activas frente a bacterias gramnegativas. A medida que se sintetizaron nuevas moléculas de fluoroquinolonas, como moxifloxacino, este espectro se amplió a bacterias grampositivas e incluso a micobacterias.

El nivel de resistencia a quinolonas fluoradas (ciprofloxacina) en enterobacterias se debe principalmente a las mutaciones de los genes de la DNA-girasa y topoisomerasa IV (Drlica *et al.*, 1997). La primera proteína de resistencia a quinolonas mediada por plásmidos Qnr (luego denominada QnrA) fue hallada en una muestra urinaria de la que se aisló una *K. pneumoniae*, en Birmingham, Estados Unidos, en 1994. Esto abrió una nueva era en la resistencia a quinolonas, descubriéndose luego la enzima AAC (6')-IbcR o las proteínas estructurales QepA (Nordmann *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2009).

Los aminoglucósidos de los grupos de la kanamicina y gentamicina son muy activos frente a la mayoría de los bacilos gramnegativos aerobios. Poseen una elevada actividad frente a un gran número de miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, como *E. coli* y otras especies de los géneros *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Proteus* (Limbird, 1996; Goñi *et al.*, 2004). La resistencia a aminoglucósidos en enterobacterias se debe fundamentalmente a la presencia de enzimas modificadoras de aminoglucósidos (EMAG).

2.4 Importancia en salud pública

Muchas bacterias han sido identificadas como las causantes de enfermedades en reptiles mantenidos en cautiverio (Keymer, 1978; Glazebrook *et al.*, 1993). Sin embargo, se conoce que muchos microorganismos pueden ser causa de elevada mortalidad en otras especies de animales acuáticos de vida libre (Medway, 1980, Ghittino *et al.*, 1984, Gulland, 1999). Por lo tanto, los estudios de la flora

bacteriana en animales silvestres son de vital importancia pues nos permiten conocer el papel que tienen estos microorganismos en las enfermedades infecciosas; así mismo, nos permiten saber cómo es que afectan la supervivencia de las poblaciones en condiciones naturales.

Considerando que muchas de estas bacterias son patógenas para los humanos y el número de los microorganismos resulta mayor en animales inmunocomprometidos, este aspecto puede ser utilizado como un importante índice para identificar grupos de animales inmunosuprimidos o enfermos; evaluando de esta manera no sólo la flora bacteriana de una población durante varios años sino brindarnos el conocimiento de la flora normal de animales silvestres para entender los riesgos potenciales de la zoonosis (Santoro *et al.*, 2006).

La tenencia de animales silvestres como mascotas ha sido una costumbre a lo largo de la historia de la humanidad, la cual prevalece hasta hoy en día, tanto en sociedades rurales como urbanas (Drews, 1999). Sin embargo, dicha actividad es una amenaza para la salud pública, ya que se incrementa el riesgo de exposición a agentes zoonóticos.

Se estima que las zoonosis representan el 75% de las infecciones emergentes, cuyo principal y usualmente desconocido reservorio lo conforman los animales silvestres (principalmente mamíferos), quienes además pueden ser fuente de reemergencia de enfermedades infecciosas previamente controladas (Kuiken *et al.*, 2005; Perkins *et al.*, 2005; Chomel *et al.*, 2007; Monsalve *et al.*, 2009; Rhyan *et al.*, 2010).

La literatura reporta diversos ejemplos de brotes de enfermedades zoonóticas asociados a la tendencia de animales silvestres como mascotas. Uno de estos casos ocurrió en Ceará, Brasil, donde se presentó un brote de rabia asociado a una nueva variante viral que provino de un mono tití (*Callithrix jacchus jacchus*) mantenido como mascota (Chomel *et al.*, 2007). También puede ocurrir el pasaje de agentes infecciosos desde las personas hacia la fauna silvestre (antropozoonosis), como en los casos de mortalidad de monos titíes (*Callithrix spp.*) asociada a infección por Herpesvirus humano tipo 1, que fueron reportados en Brasil y Austria (Bruno *et al.*, 1997; Huemer *et al.*, 2002; Longa *et al.*, 2011).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de estudio

Este proyecto se desarrolló en el zocriadero privado, ubicado en la provincia y departamento de Lima. Sus coordenadas son 12°0'0" S y 76°55'60" W en formato DMS. Para luego ser remitido al laboratorio de Microbiología de la Universidad Científica del Sur para su procesamiento microbiológico.

3.2 Toma de muestras

Se realizó la captura de los diferentes especímenes mediante restricción física para la toma de muestras (hisopados cloacales); se introdujo a través de la cloaca un hisopo con punta de algodón estéril, penetrando hasta 1 cm de profundidad, y se realizaron movimientos suaves de rotación sobre la mucosa. Las muestras tomadas se conservaron húmedas introduciendo los hisopos en tubos tipo falcón estériles, los cuales contenían el medio de transporte Stuart (Merck) conservadas a una temperatura promedio de 4°C hasta su llegada al laboratorio de Microbiología de la Universidad Científica del Sur, siempre dentro de las primeras 12 horas después de la toma de muestra. Todas las muestras fueron sembradas en los distintos medios e incubadas a 37°C para bacterias y a 28°C para hongos y levaduras y se les realizaron las distintas pruebas bioquímicas (TSI, citrato de Simmons, LIA, SIM, lisina descarboxilasa, catalasa, oxidasa, indol, ureasa) descritas a fin de tener el mayor número de datos microbiológicos para cada especie. A fin de que el tiempo de incubación fuera el adecuado para cada cepa bacteriana, las lecturas de desarrollo bacteriano se realizaron entre uno y cuatro días después de la siembra.

Los organismos fueron identificados por las características de crecimiento de las colonias y por reacciones bioquímicas en los paneles y reactivos ya descritos.

La población de estudio fue conformada por emeucema y siete lagartos caimán (*Dracaena guianensis*) juveniles del zocriadero privado (Lima).

Se trabajó con la población total de lagartos caimán (*Dracaena guianensis*) en cautiverio.

3.4 Aislamiento bacteriano

Se sembró primeramente en agar MacConkey, ya que es un medio selectivo diferencial utilizado para el aislamiento y diferenciación de bacilos gramnegativos fermentadores y no fermentadores de lactosa, se sembró con asa sobre la superficie del agar y luego pasa a incubación en aerobiosis, a 37°C por 24-48 horas, en el caso de *E. coli* producirán colonias de borde entero, color fucsia (lactosa positivos), opaco de 2 mm- 3 mm de diámetro (INS, 2005; Casado *et al.*, 2012; Morales, 2013). Para el caso de *Salmonella spp.*, las colonias se detectaron por su característica macroscópica de ser lactosa negativo, presentar borde definido, tamaño aproximado de 1 a 1.5 mm de diámetro y ser ligeramente convexas (Corrente *et al.*, 2004, Stanchi, 2007).

3.4.1 Cultivo en agares selectivos

Las colonias aisladas de MacConkey, sospechosas de *Escherichia coli* se sembraron en medios de cultivo diferencial a través de pruebas bioquímicas como: *Agar Triple Sugar Iron o tres azúcares (TSI)*, un medio de diferenciación de *Enterobacteriaceae* basado en la producción de sulfuro de hidrogeno y fermentación de lactosa, sacarosa y glucosa, por la fermentación de azúcares, se producen ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira al color amarillo en medio ácido. El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro. La interpretación de resultados se determinó por la coloración en la que se torna y la producción de gas, cuando es superficie alcalina y profundidad acida (pico rojo/ fondo amarillo) el microorganismo fermenta glucosa, cuando la superficie es acida y la profundidad es acida (pico amarillo/fondo amarillo) indica que el microorganismo fermenta glucosa, sacarosa y/o lactosa (MacFaddin, 2000; INS, 2005).

El agar *Citrato de Simmons*, medio utilizado para la diferenciación de enterobacterias en base a la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono y energía. El metabolismo del citrato se realiza, en aquellas bacterias poseedoras de citrato permeasa, a través del ciclo del ácido tricarbóxico. El desdoblamiento del citrato genera progresivamente, oxalacetato y piruvato (Koneman *et al.*, 1997; Farmer, 2003). El agar *Lisina Hierro*, medio de cultivo utilizado para diferenciar microorganismos, basado en la decarboxilación y desaminación de la lisina y en la producción de ácido sulfhídrico. Los microorganismos fermentadores de glucosa acidifican el medio y provocan el viraje del

color púrpura al amarillo, el ambiente ácido favorece la actividad enzimática decarboxilasa y se metaboliza la lisina a cadaverina elevando el pH del medio de cultivo y tornándolo al color púrpura o violeta, los microorganismos fermentadores de glucosa que no tienen actividad lisina decarboxilasa, producen un viraje de la totalidad del medio de cultivo al color amarillo, se hace punción profunda y luego se siembra en la superficie, luego se incubo a 37°C por 24 horas. En el caso de la *E. coli* es positiva a lisina descarboxilasa quedando un color púrpura en todo el tubo (MINSAs, 2012; Morales, 2013). El *Agar SIM con reactivo Indol*, medio semisólido destinado a verificar la movilidad, producción del indol y de sulfuro de hidrogeno por los microorganismos. El triptófano es un aminoácido constituyente de muchas peptonas y particularmente de la tripteína y puede ser metabolizado por algunas bacterias para formar indol, este se combina con el aldehído del reactivo de Ehrlich o de Kovac's, para originar un compuesto de color rojo (MacFaddin, 2000). El medio urea, medio utilizado para diferenciar microorganismos en base a la actividad ureásica, las bacterias hidrolizan la urea por medio de la enzima ureasa liberan amoníaco y dióxido de carbono. Estos productos alcalinizan el medio de cultivo haciendo virar el indicador rojo de fenol del color amarillo al rojo (MacFaddin, 2000).

3.4.2 Pruebas bioquímicas

Una vez realizado el aislamiento bacteriano se procedió a la identificación bacteriana a través de las pruebas bioquímicas que revelan las características metabólicas. Las pruebas bioquímicas utilizadas fueron las de catalasa, oxidasa, indol, ureasa y movilidad, y reacciones bioquímicas como la capacidad de fermentar azúcares (glucosa, lactosa, sacarosa), utilización de fuentes de carbono a partir de citrato, ornitina, maltosa y lisina.

3.5 Determinación de susceptibilidad a los antibacterianos

Se realizó pruebas de susceptibilidad a las cepas aisladas de *E.coli* por medio del método de disco difusión basado en el trabajo de Kirby – Bauer y recomendado por el *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS), método fácilmente estandarizable e indicado para microorganismos no exigentes y de crecimiento rápido, cuyos resultados se expresan de forma cualitativa, como “sensible” (en cuyo caso se supone que un tratamiento “estándar” con aquel compuesto producirá la curación), “resistente” (el antimicrobiano examinado no será eficaz en aquella patología) o “intermedio” (la efectividad de aquel compuesto dependerá de su localización o de la dosificación utilizada) (Reyes *et al.*, 2004; Taroco *et al.*, 2008; Morales, 2013).

El método de discos difusión que se utilizó en el Laboratorio de Microbiología consistió en inocular la cepa pura en el caldo de Tripticasa de Soya, ajustándose su turbidez equivalente al estándar 0.5 de la escala de Mc. Farland, posteriormente se procedió a sumergir un hisopo estéril en la suspensión y se dejó 5 minutos para mejor adsorción, luego se sembró en un medio de cultivo no selectivo: agar Muller Hinton, estriando con hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo, luego mantuvo la placa a temperatura ambiente por 5 minutos, posteriormente con una pinza estéril se colocaron los discos de antibióticos sobre la superficie del agar uniformemente con una distancia mínima de 25 mm uno del otro aproximadamente, donde se utilizaron: Cefuroxima, Ceftriaxona, Enrofloxacin, Acido Nalidíxico, Sulfatrimetropin, Gentamicina, Tetraciclina, Neomicina, Ciprofloxacina, Nitrofurantoina, Oxacilina y Estreptomina, antibióticos principalmente usados para tratamiento contra infecciones gramnegativas (Sacsquispe y Velásquez, 2002; Reyes *et al.*, 2004; Carloni *et al.*, 2011; Morales *et al.*, 2011), se utilizó 6 discos por placa Petri de 100 mm, para evitar la superposición de las zonas de inhibición, se dejó incubar por 16-18 horas a 37°C (MINSa, 2012; Morales, 2013).

Luego del periodo de incubación se produjo la inhibición del crecimiento del microorganismo analizado en un punto del gradiente y dando como resultado un área excéntrica al disco de inhibición, esta área, al ser proporcional a la Concentración inhibitoria mínima (CMI) permitirá la distinción de cepas sensibles, resistentes o intermedias (Malbram, 2001; Corna, 2002; Taroco *et al.*, 2008; Prat, 2009). Estos diámetros de inhibición se midieron con la regla estandar (INS, 2005; Morales, 2013).

IV. RESULTADOS

Se muestrearon 57 animales, obteniéndose los siguientes resultados:

Porcentaje de aislados bacterianos de cloaca de Lagartos caimán (*Dracaena guianensis*)

Dentro de los microorganismos gramnegativos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, los de mayor prevalencia encontrados fueron de los siguientes géneros *Shigella* sp. 15.32% (19/124), *Enterobacter cloacae* 12.09% (15/124) y *Enterobacter aerogenes* 11.29% (14/124). El resto de enterobacterias identificadas se puede apreciar en el cuadro 1. Los medios de cultivo utilizados para la identificación de enterobacterias también permitieron la identificación de otros géneros presentes, como es el caso de *Pseudomonas aeruginosa*.

Distribución porcentual de los aislados bacterianos frente a los antibióticos evaluados

La prueba de determinación de sensibilidad antibiótica muestra los porcentajes de sensibilidad, sensibilidad intermedia y resistencia de las 124 cepas aisladas frente a cada uno de los 12 antibióticos en estudio (Cuadro 2). Siendo los antibióticos de mayor efectividad la ciprofloxacina 98.25% (112/114), gentamicina 98.25% (112/114), enrofloxacina 93.86% (107/114), nitrofurantoina 91.23% (104/114), ceftriaxona 88.60% (101/114), neomicina 87.72% (100/114), cefuroxima 82.46% (94/114) y estreptomycinina 79.82% (91/114). El resto de sensibilidad antibiótica se puede apreciar en el cuadro 2.

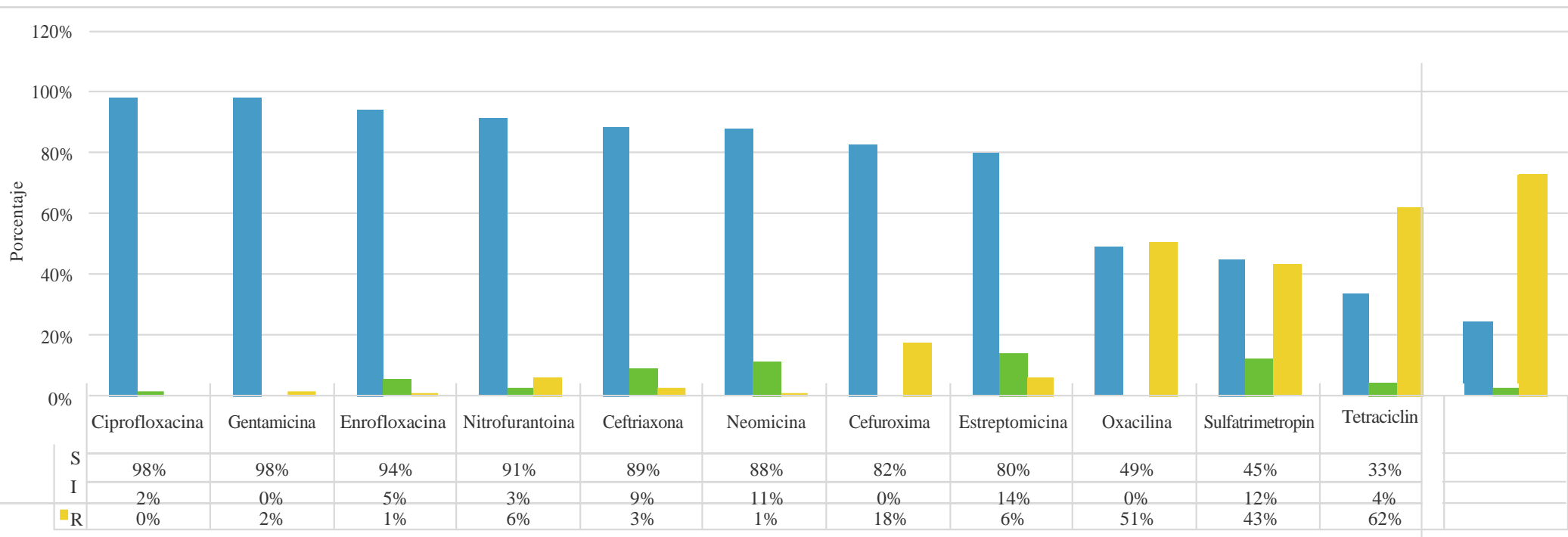
Cuadro 1. Porcentaje de géneros pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* aislados de cloaca de Lagartos caimán (*Dracaena guianensis*)

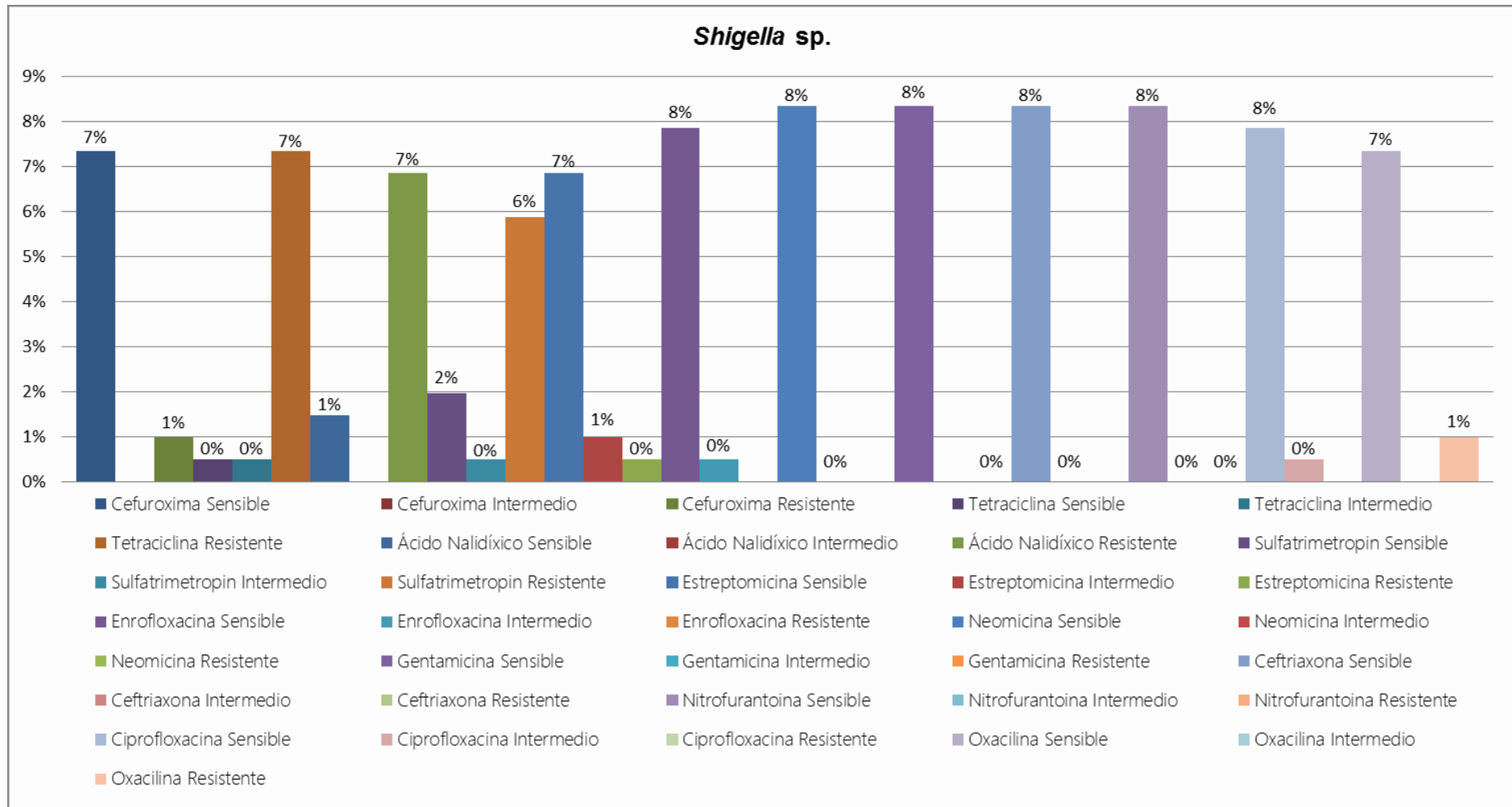
Bacterias	Zoocriadero de Lima
	%
<i>Providencia</i>	19,35%
<i>Shigella</i>	15,32%
<i>Enterobacter</i>	23,38%
<i>Klebsiella</i>	5,64%
<i>E.coli</i>	6,45%
<i>Serratia</i>	8,88%
<i>Hafnia</i>	4,03%
<i>Salmonella</i>	8,87%
<i>Yersinia</i>	1,61%
<i>Citrobacter</i>	3,23%
<i>Pantoea</i>	3,23%
Total <i>Enterobacteriaceae</i>	99,99%

Cuadro 2. Porcentaje de las especies bacterianas aisladas de cloaca de Lagartos caimán (*Dracaena guianensis*)

Bacterias		Zoocriadero de Lima	
		n	%
<i>Providencia</i>	<i>P. alcalifaciens</i>	11	8,87%
	<i>P. rettgeri</i>	11	8,87%
	<i>P. stuartii</i>	2	1,61%
<i>Shigella</i>	<i>Shigella</i> sp.	19	15,32%
<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae</i>	15	12,09%
	<i>E. aerogenes</i>	14	11,29%
<i>Klebsiella</i>	<i>K. oxytoca</i>	5	4,03%
	<i>K. pneumoniae</i>	2	1,61%
<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> sp.	8	6,45%
<i>Serratia</i>	<i>Serratia</i> spp.	9	7,26%
	<i>S. marcescens</i>	1	0,81%
	<i>S. odorifera</i>	1	0,81%
<i>Hafnia</i>	<i>H. alvei</i>	5	4,03%
<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i> sp.	11	8,87%
<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	2	1,61%
<i>Citrobacter</i>	<i>C. diversus</i>	4	3,23%
<i>Pantoea</i>	<i>P. agglomerans</i>	4	3,23%
Total Enterobacteriaceae		124	100%
<i>Pseudomona</i>	<i>P. aeruginosa</i>	10	100
Total Pseudomona		10	100%

Gráfico 1. Distribución porcentual de los aislados bacterianos frente a los antibióticos evaluados (n=124)





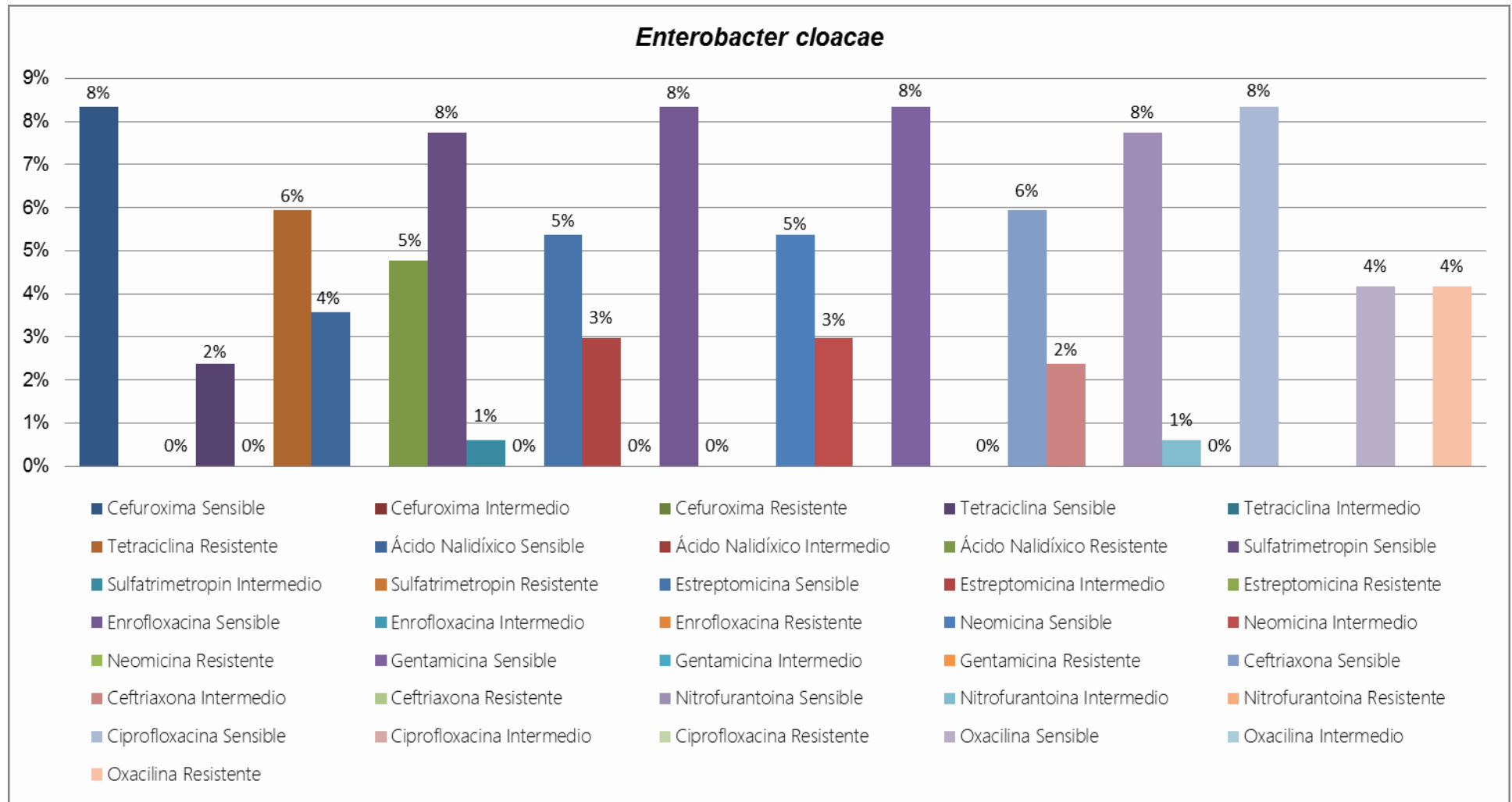


Gráfico 7. Distribución porcentual de aislamiento de *Enterobacter aerogenes* frente a los antibióticos evaluados

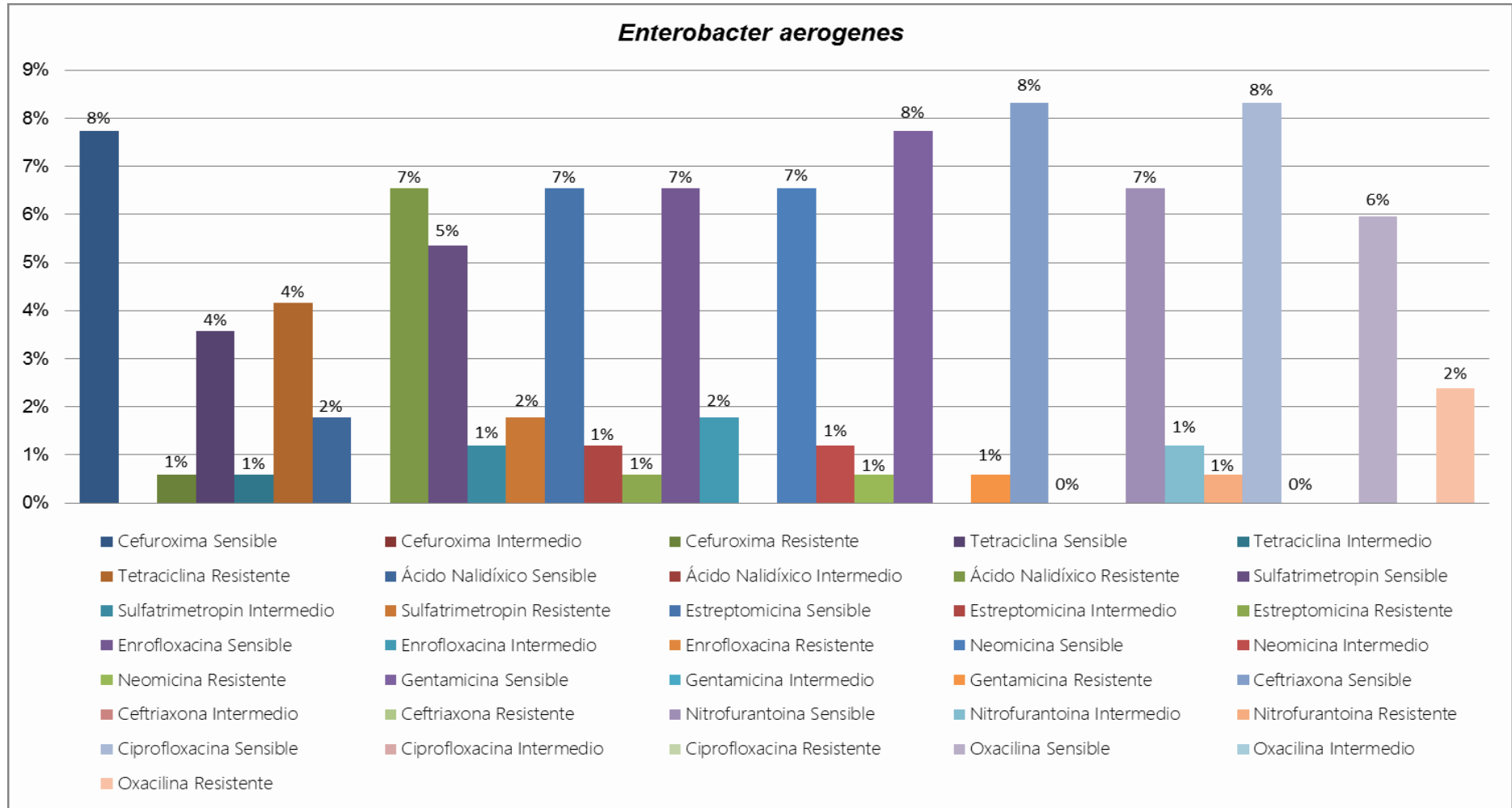
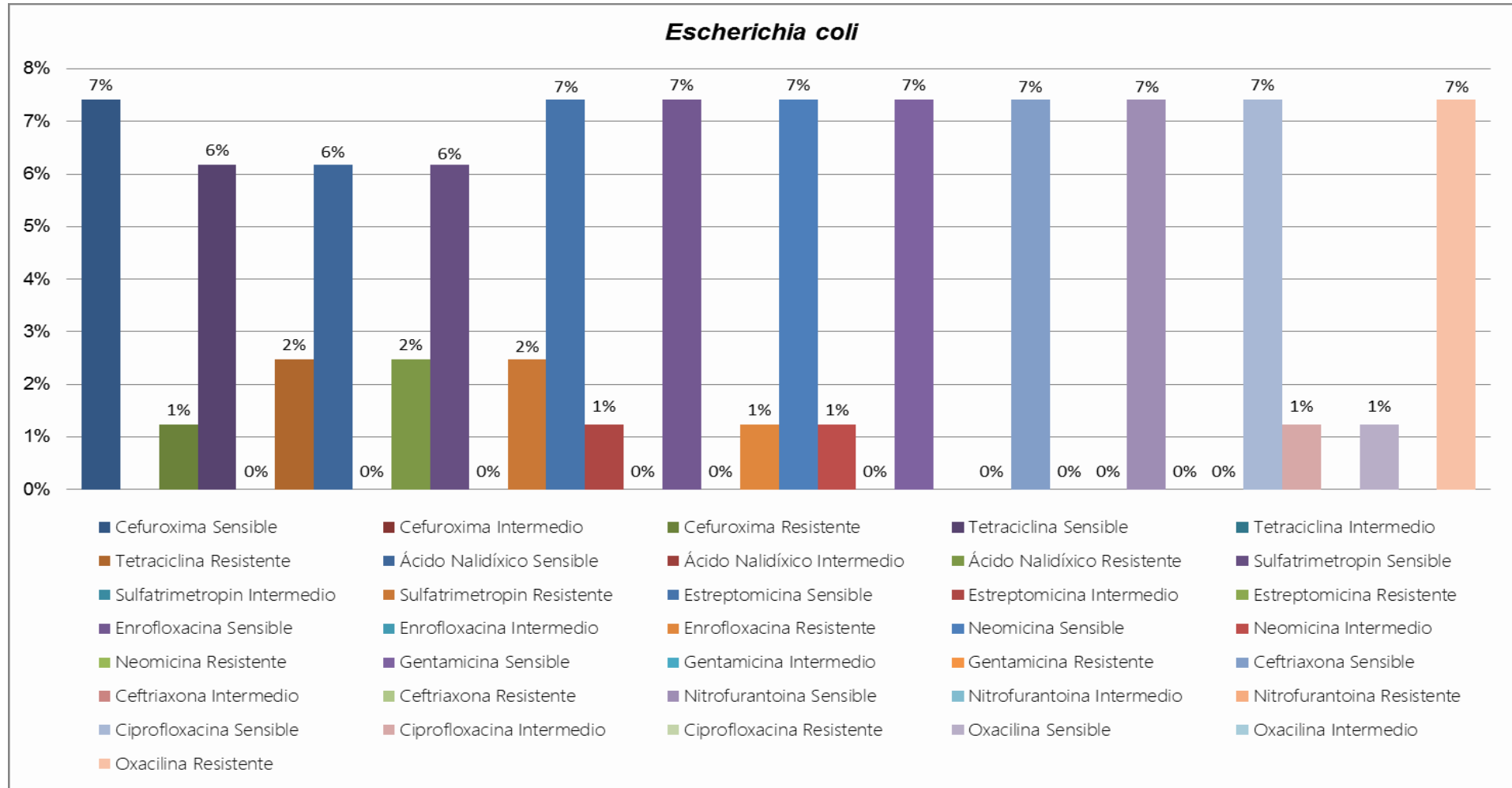


Gráfico 3. Distribución porcentual de aislamiento de *Escherichia coli* frente a los antibióticos evaluados



V. DISCUSIÓN

El lagarto caimán (*Dracaena guianensis*) actualmente se encuentra protegido por la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas (CITES) descrito en el Apéndice II; sin embargo, al igual que muchas otras especies de animales silvestres, son víctimas del comercio ilegal; por ende, su tenencia prevalece tanto en sociedades rurales como urbanas. Dicha actividad es una amenaza para la salud pública, ya que se incrementa el riesgo de exposición a agentes zoonóticos (Pautrat *et al.*, 2002).

Hasta el momento no se ha realizado ningún tipo de estudio en esta especie animal, salvo la información que se está ofreciendo en este trabajo y la realizada por **Jacobson *et al.* (2001)**; donde se documenta el aislamiento del Paramyxovirus en tres colonias de lagartos caimán (*Dracaena guianensis*) que fueron importados desde Perú a EEUU a finales de 1998 y principios de 1999. Este es el primer informe que relaciona una infección por Paramyxovirus con una epidemia en un grupo de lagartos, la evaluación histológica de los tejidos en la necropsia demostró una neumonía intersticial proliferativa que fue similar a la observada en serpientes. La susceptibilidad de los lagartos a la infección y la muerte por este virus era desconocida previamente. El origen de la infección en estos lagartos caimán aún no está claro.

La situación epidemiológica a nivel mundial, demuestra que las enfermedades en especies de fauna silvestre son cada vez más frecuentes y están directamente relacionadas con la salud tanto de animales domésticos como de los seres humanos. Esta situación ha sido favorecida por el desplazamiento de poblaciones humanas a entornos silvestres, la deforestación, el incremento del mercado legal e ilegal de fauna silvestre y la tenencia de animales silvestres como mascotas, cir-

constancias que contribuyen a la diseminación global de nuevos patógenos y enfermedades emergentes (Martínez y Botero, 2011).

Si bien se han realizado análisis como el presente estudio, en otras especies de reptiles (serpientes, testudines, cocodrilos, iguanas, lagartos); no obstante, la información que se ofrece en este trabajo es la primera descripción microbiológica realizada hasta la fecha en las especies del género *Dracaena guianensis* en el Perú. El conocimiento concerniente a las enfermedades de los reptiles ha aumentado enormemente en las dos últimas décadas; sin embargo, poco se conoce sobre el impacto de las enfermedades infecciosas bacterianas en las poblaciones de reptiles y sobre el papel que varios microorganismos puedan desarrollar como patógenos (Glazebrook y Campbell, 1990). Así mismo, la carencia de buenos métodos de diagnóstico, la escasez de laboratorios clínicos en los cuales se pueda realizar las técnicas diagnósticas correctas y la falta de conocimiento acerca de la microflora normal de la mayoría de taxones de reptiles, dificulta el diagnóstico de enfermedades en estas especies (Pasmans *et al.*, 2008). Por tal razón, es necesario que amplíemos el conocimiento sobre esta clase de animales para conocer la población saprófita bacteriana normal, lo cual nos permita distinguir claramente entre patógenos primarios y secundarios (Solórzano, 2002). Así mismo, se podría conocer el papel que juegan estos microorganismos en las enfermedades infecciosas (patologías digestivas o sistémicas) y cómo es que afectarían la supervivencia de las poblaciones de reptiles en condiciones *in situ* dentro del equilibrio biológico de estos vertebrados; todo ello dirigido a realizar manejos médicos adecuados y a optimizar programas de conservación. Se reconoce que las enfermedades infecciosas son una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en reptiles dada la inmunosupresión general por el estado de cautivero (Martínez *et al.*, 2003; Rosenthal y Mader, 2006); tal condición se verifica probablemente porque los sujetos inmunosuprimidos no son capaces de responder adecuadamente a una infección, favoreciendo así la proliferación masiva de bacterias presentes en individuos sanos (Sunderland y Veal, 2001; Santoro *et al.*, 2005).

Los resultados en este trabajo de investigación muestran una mayor presentación de *Enterobacteriaceae* predominando microorganismos de los géneros *Shigella* sp. 15.32% (19/124), *Enterobacter cloacae* 12.09% (15/124) y *Enterobacter aerogenes* 11.29% (14/242). Sin embargo, microorganismos como *Pseudomona aeruginosa*, fueron hallados en una proporción de 10/134. Existen varios estudios que indican que las bacterias gramnegativas son los principales patógenos oportunistas de los reptiles (Solórzano, 2002). Según Muro (1998) y Rojas (2013), el estrés, la sobremanipulación, el ambiente incorrecto, la hipotermia, la hipovitaminosis C, la falta de higiene, la falta de control del fotoperiodo, la falta de agua y la mala condición de humedad en el

recinto, el endoparasitismo, los traumatismos y las heridas son los principales factores que pueden llevar a un declino en la condición física del animal produciendo de esta manera, el apareamiento de enfermedades. **Martínez y Botero (2011)**, analizaron la presentación de enfermedades y lesiones más frecuentes en cuatro principales grupos de reptiles (quelonio, ofidio, crocodylia y lacertilia). La patología con mayor frecuencia fue la neumonía bacteriana con 12.7% (36/284), en segundo lugar la infección sistémica (en la mayoría de los casos por procesos septicémicos de origen bacteriano) con 10.6% (30/284). La lesión de hepatitis se observó en el 8.1% (23/284), la nefritis intersticial en 6.7% (19/284) y la enteritis bacteriana en 6% (17/284). La spirorchidiasis (caracterizada por la presencia de estructuras parasitarias tremátodos “Spirorchidos” y huevos de los mismos) se vio en un porcentaje considerable sobre el total de casos, 4.6% (13) y únicamente en el grupo de quelonios. Finalmente, la lesión de dermatitis tuvo 4.2% del total de casos (284).

En esta investigación se encontró bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* en un 100% del total de especies bacterianas diagnosticadas, siendo las enterobacterias con mayor porcentaje de aislamiento *Shigella spp* 15.32% (19/124), *Enterobacter cloacae* 12.09% (15/124) y *Enterobacter aerogenes* 11.29% (14/124). Este porcentaje encontrado de enterobacterias demuestra que la conformación de la flora bacteriana encontrada en la cloaca de los lagartos caimán (*Dracaena guianensis*) concuerdan con los realizados por **Aguillón (2007)** quién reporta las siguientes bacterias: *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Pantoea agglomerans*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter freundii*, *Providencia rettgeri*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Serratia odorifera*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas spp.*, *Streptococcus spp.* Para **Marçal et al. (2008)** los aislamientos más frecuentes fueron: *Salmonella* (27.3%), *Citrobacter* (26.0%), *Escherichia coli* (12.3%), *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Kluyvera*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia spp.* En otro estudio realizado, **Pachón et al. (2010)** también reportan la presencia de flora gramnegativa predominando microorganismos de los géneros *Enterococcus spp.* (31%), *Escherichia coli* (28%), *Klebsiella spp.* (26%), *Salmonella spp.* (6%), *Citrobacter spp.* (1%) y *Proteus* (3%). **Barazorda et al. (2014)** obtuvieron *Staphylococcus spp.* (52.4%), *Pseudomona spp.* (36.4%), *Citrobacter spp.* (26.3%), *Salmonella spp.* (15.8%), *Corynebacterium spp.* (10.5%), *Comamonas testosteroni* (9.5%) y *Enterobacter cloacae* (9.5%). Finalmente, **Ajayi et al. (2015)** corroboran el predominio de la flora gramnegativa, siendo las especies bacterianas más significativas: *Enterobacter cloacae* (30.33%), *Escherichia coli* (22.40%), *Salmonella entérica* (11.48%), *Proteus mirabilis* (6.01%), *Klebsiella spp.* (3.83%), *Enterobacter aerogenes* (1.64%), *Pseudomona aeruginosa* (1.37%), *Citrobacter werkmanii* (0.27%), *Citrobacter almanolaticus* (0.27%). Si bien existe concordancia en el predominio

de flora gramnegativa entre los hallazgos de la presente investigación y los presentados en los diferentes estudios mencionados anteriormente, es evidente que existe una marcada diferencia en el porcentaje de los aislados bacterianos. La discrepancia en el porcentaje de aislados bacterianos puede estar influenciada por diferencias específicas del hospedero como la edad, el estado de salud, la dieta, el estrés o la administración de antibióticos u otros medicamentos. En este estudio de investigación, los especímenes evaluados eran juveniles a diferencia de los estudiados por otros autores. Por otro lado, un mal manejo sanitario, siendo el factor más importante a tener en cuenta la temperatura (temperatura de incubación), puede hacer que las bacterias aisladas tengan una adaptación a la misma y; en consecuencia, realicen un desarrollo importante a temperaturas inferiores a las esperables (Boyer, 1992).

Así mismo, encontramos que también difieren en el aislamiento e identificación de microorganismos grampositivos (*Enterococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Staphylococcus spp.* y *Streptococcus spp.*). Si bien, la microbiota gastrointestinal de reptiles se compone generalmente de aerobios y anaerobios grampositivos y gramnegativos (Díaz-Figueroa y Mitchell, 2006), son las bacterias gramnegativas los patógenos bacterianos más comunes. Sin embargo, se sabe que la mayoría de las bacterias grampositivas si bien no se consideran patógenos en reptiles porque son habitantes comunes, algunas de ellas pueden llegar a causar enfermedad, especialmente en un animal inmunocomprometido (Rosenthal y Mader, 2006). *Staphylococcus* por ejemplo, es un género muy común en la flora fecal de vertebrados; por lo tanto, es considerado como una cepa de carácter ubicuo que puede estar presente en un gran número de reptiles, siendo rutinario su aislamiento en una multitud de especies (Draper *et al.*, 1981; Dickinson *et al.*, 2001; Sunderland y Veal, 2001). Otras bacterias, sin embargo, se aíslan como flora predominante en una especie y no en las otras, como es el caso de *Enterococcus*. La composición y diversidad de esta especie en las heces de animales parece depender sobre todo de la alimentación y las condiciones del ambiente en el que se desarrolla el ciclo vital del hospedador. Estas y otras diferencias encontradas también pueden interpretarse como características propias de cada especie y no tienen por qué significar ninguna anomalía patológica o disbacteriosis digestiva.

La infección por *Shigella* es la tercera causa más común de gastroenteritis bacteriana en humanos, después de la infección por *Salmonella* (Gupta *et al.*, 2004). Es rara la presentación de *Shigella* en otras especies de animales, incluyendo las domésticas, granja y exóticos (Bowen, 2014). *Shigella* es y ha sido uno de los patógenos entéricos con mayor frecuencia de presentación en primates no humanos en cautividad, incluyendo los tíes (*Callithrix*), tamarinos (*Saguinus*), monos araña (*Ateles*), capuchinos (*Cebus*), macacos (*Macaca*), babuinos (*Papio*), y simios (Galton *et*

et al., 1976; Pinkston, 1968; Mammone et al. y Rubin, 1967; Milder, 1971; Cooper y Neenan, 1976; McClure *et al.*; 1976). Todas las especies de *Shigella*, incluida *S. dysenteriae* 1, que se considera la más patógena para el hombre, han sido aisladas de primates (L'Hote, 1980). En 1984 se produjo una epizootia causada por *S. flexneri* tipo 2 en el Parque Zoológico de Washington D.C., y a partir de ese año la shigelosis se hizo endémica. Las especies infectadas fueron gibones (*Hylobates concolor* y *H. syndactylies*), macacos (*Macaca silenus*, *M. nigra* y *M. sylvanus*), monos colobus (*Colobus guerzea*) y gorilas (*Gorilla gorilla*). Siendo la especie *Macaca* la más fácil de infectar (Good *et al.*, 1969). De 1984 a 1988, las dos especies de gibones (especies amenazadas de extinción) tuvieron una incidencia alta de la infección y la enfermedad (Banish *et al.*, 1993). *S. sonnei* se aisló de monos mangabey (*Cercocebus albigena*) y monos araña (*Ateles suscipecs*) de la misma colección zoológica (Banish *et al.*, 1993). Como ya lo habíamos mencionado anteriormente, es muy poco frecuente el aislamiento de *Shigella* en animales silvestres. Sin embargo, **Dickinson *et al.* (2001)**, lograron aislar *Shigella spp.* de la cloaca de tortugas en dos desiertos de USA. Así mismo, **Mahmound *et al.* (2008)**, aislaron *Shigella spp.* desde el fluido del oviducto de las tortugas verdes (*Chelonya midas*) durante las puesta de huevos. **Benavides de Morais *et al.* (2011)** aislaron *Shigella flexnerii* de la cloaca de dos especies de tortugas (*Podocnemis expansa* y *Podocnemis unifilis*). El porcentaje de *Shigella spp.*, 15.32% (19/124) obtenido en el presente estudio sugiere que las personas que participaron en el transporte de los lagartos caimán (*Dracaena guianensis*) o en los estudios que utilizaron a estos animales corren el riesgo de ser infectados por este patógeno durante la inspección, transporte, o realización de investigaciones con ellos. La posibilidad de infección es especialmente alta para las personas que están enfermas o inmunocomprometidas.

Diferentes autores informan que los microorganismos que normalmente se encuentran como componentes de la microbiota del sistema digestivo pueden actuar como agentes etiológicos de enfermedades gastrointestinales en los reptiles (Boyer, 1995), tal es el caso de *Enterobacter cloacae* y *E.aerogenes*. *Enterobacter cloacae* fue la segunda bacteria más aislada en este trabajo de investigación con un 12.09% (15/124), lo que concuerda con **Mathewson (1979)**, quién reporta un 41.8% de *E.cloacae* en siete especies de lagartos iguanas en Texas (USA). Por otro lado, **Silva *et al.* (2009)**, también la aislaron en 21 ejemplares de yacaré overo (*Caiman latirostris*) en Brasil, representando un 14.29% (3/21) de los aislados. Así mismo, también fue encontrada por **Ajayi *et al.* (2015)** en un 30.33% (111/366) en lagartos (*Agama agama*) en Ibadan (Nigeria). Por otro lado; *Enterobacter aerogenes* fue la tercera bacteria más aislada en este trabajo, constituyendo un 11.85% (14/124). Este porcentaje obtenido en este estudio no concuerda con el de otros, en los cuales el porcentaje adquirido no llega a ser significativo. Por ejemplo, hay estu-

rios como el realizado por **Matthewson (1977)**, quien sólo reportó 5% de *Enterobacter aerogenes* en siete especies de lagartos iguanas en Texas (USA). **Ahmed et al. (2007)**, sólo registraron un 6% de *Enterobacter aerogenes* de 103 muestras obtenidas de mamíferos, reptiles y aves del Parque Zoológico de Asa (Hiroshima-Japón). **Ajayi et al. (2015)**, sólo encontraron un 1.64% (6/366) de *Enterobacter aerogenes* del total de enterobacterias diagnosticadas.

Desde un punto de vista clínico, el aislamiento de algunos agentes merece especial atención muy a pesar de que el porcentaje de aislamiento obtenido no haya sido significativo. Tal es el caso de *Salmonella*; la cual para este estudio sólo representó un 5.43% (11/124) del total de enterobacterias diagnosticadas. Resultado que concuerda con el reportado por **Campos (2013)**, quien obtuvo una prevalencia de 4.11% (3/73) positivos a *Salmonella spp.* en tortugas taricaya (*Podocnemis unifilis*). Así mismo, **Meza (2015)**, también obtuvo 5.9% (4/67) *Salmonella spp.* en tortugas de orejas rojas (*Trachemys sp*). El género *Salmonella* suele colonizar la parte distal del intestino delgado y colon de mamíferos, aves y reptiles (Carvalho, 2006). Y es comúnmente aislado en animales ectotermos aparentemente sanos, siendo considerado por muchos autores como residente habitual en el aparato digestivo de reptiles (Orós et al., 1997; Jacobson y Cheatwood, 2000; Molina et al., 2002), principalmente en iguanas (Mitchell y Shane, 2000), cocodrilos (Manolis et al., 1991; Obwolo y Zwart, 1993) y tortugas (Pasmans et al., 2000). Su aislamiento en Testudines de diferentes familias ha sido reportado con mayor frecuencia (Pasmans et al., 2002; Santoro et al., 2005; Saelinger y Lewbart, 2006; Hidalgo et al., 2007; Hidalgo et al., 2008), no se puede ignorar el hecho de que para todos los individuos evaluados, las condiciones de cautiverio pueden llegar a generar cuadros de inmunosupresión marcada donde la enterobacteria es excretada de manera intermitente (Chiodini y Sundberg, 1981; Pasmans et al., 2000; Bradley et al., 2001; Ebani et al., 2005) llegando a producir estados patológicos caracterizados por letargia, anorexia, septicemia, neumonía, celomitis, abscesos, shock hipovolémico y, bajo circunstancias extremas, la muerte del animal (Onderka y Finlayson, 1985; Frye, 1991). Otro aspecto relevante de la presencia de *Salmonella spp.*, es su carácter zoonótico ya que los aislamientos y la clasificación de la bacteria a partir de reptiles se ha considerado como patógenos para humanos, al poseer factores de virulencia cruciales en el desarrollo de gastroenteritis (Mader, 1996; Ardila et al., 1999; Pasmans et al., 2002). Existen reportes de salmonelosis en humanos adquirida a partir del contacto con reptiles y anfibios (Altman et al., 1972; Sanyal et al., 1997).

También se han aislado *Citrobacter diversus* 3.10 % (4/124), *Klebsiella oxytoca* 3.88% (5/124) y *K.pneumoniae* 1.55% (2/124), las cuales aunque son parte de la flora normal, bajo ciertas condiciones pueden llegar a producir septicemias, enterocolitis y diarreas; *Escherichia coli* 4.65%

(O124) puede generar dolor abdominal, diarrea, vómitos y fiebre. *Klebsiella*, presenta un comportamiento oportunista y produce enfermedades respiratorias; las principales lesiones posmortem encontradas son poliartritis, peritonitis y meningoencefalitis, las cuales se caracterizan por presentar material mucopurulento en la cavidad peritoneal y encefálica (Frye, 1991; Mader, 1996; Ballesteros, 2003; Martínez *et al.*, 2003); por último, *Citrobacter*, ha sido implicado en enfermedades sistémicas en tortugas y alteraciones intestinales (Mader, 1996; Martínez *et al.*, 2003).

Según Santoro *et al.* (2005).

Pseudomona aeruginosa fue una de las bacterias más aisladas y es potencialmente patógena; pudiendo portarse como oportunista e ingresar en los tejidos dañados por traumas (moderaduras) o aprovechar las condiciones de estrés causando enfermedades graves (Draper *et al.*, 1981; Lauckner, 1985; Glazebrook y Campbell, 1990; Glazebrook *et al.*, 1990; Dickinson *et al.*, 2001). Este género de microorganismos suele asociarse a enteritis necrotizante y estomatitis ulcerativa en saurios (Frye, 1991; Jacobson, 1991) porque pueden hacer parte de la flora normal de la cavidad bucal y tracto gastrointestinal de reptiles (Rosental y Mader, 2006). En esta investigación se aisló 10 cepas lo que concuerda con Santoro *et al.*, y Boyer (1995), quién reafirma que es de las bacterias más aisladas de reptiles. Göbel y Schildger aislaron este microorganismo en 22 de 36 serpientes enfermas (incluyendo a 11 de 15 serpientes con estomatitis infecciosa y 1 de cada 7 que tenían neumonía). *Pseudomona stutzeri*, *Pseudomona cepacia*, puede aislarse de lagartos y serpientes con enfermedades gastrointestinales, respiratorias y cutáneas. Otras bacterias gramnegativas aisladas de procesos patológicos de todo tipo de reptiles (estomatitis infecciosa, enfermedades respiratorias, abscesos, infecciones cutáneas, enteritis necrótica, infecciones articulares y septicemia) son *E.coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Salmonella spp.*, etc. Así mismo, para Aguillón *et al.* (2007), *P. aeruginosa* fue la segunda bacteria más aislada con un 11.7% (53 cepas). Barazorda *et al.* (2004) reportaron *P. aeruginosa* en un 36.4% (53 cepas) y Ajayi *et al.* (2014) también reportaron *P. aeruginosa* en un 1.37%. Concluyendo de esta manera lo descrito por Martínez *et al.* (1994), quienes afirman que las bacterias gramnegativas, en especial los géneros *Pseudomonas* y *Aeromonas*, se identifican comúnmente como patógenos en reptiles inmunosuprimidos.

Desde el punto de vista de profilaxis, las cepas bacterianas que han sido aisladas en este estudio de investigación pueden llegar a generar una enfermedad en los especímenes evaluados. La causa está en que el sistema inmunitario del reptil es muy vulnerable a los cambios térmicos, el estrés, la carga parasitaria, los tratamientos inadecuados, las dietas erróneas, etc. Por lo tanto, mu-

cepas de las cepas identificadas en este estudio se consideraran no solo potencialmente patógenas para el hospedador sino también potencialmente zoonóticas, como *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli.*, *Citrobacter spp* (Johnson-Delaney, 1996). Por ello, el conocimiento de la comunidad microbiana normal en estas especies tan amenazadas permite una mayor capacidad de diagnóstico en cuanto a la participación de posibles bacterias y hongos en procesos infecciosos de las mismas y, sobre todo, facilita la tarea de prevención de estas enfermedades mediante tratamientos y rutinas desinfectantes convencionales (Mitchell y Mc Avoy, 1990; Johnson y Benson, 1996; Martínez *et al.*, 2003).

En este estudio de investigación las 17 diferentes especies de enterobacterias aisladas presentaron, en su mayoría, un buen porcentaje de sensibilidad (cuadro 2) y quienes exhibieron un alto porcentaje de resistencia fueron: ácido nalidíxico 72.81% (83/114) y tetraciclina 62.28% (71/114). Ciprofloxacina mostró 98.25% (112/114) y enrofloxacina mostró un 93.86% (107/114) de sensibilidad frente a las cepas bacterianas evaluadas, lo cual concuerda con **Ebani *et al.* (2005)**, quienes confirman que las fluoroquinolonas muestran altos porcentajes de sensibilidad antimicrobiana para aislamientos gramnegativos. Así mismo, **Vargas *et al.* (2010)** obtuvieron un bajo porcentaje de resistencia de bacterias gramnegativas a las fluoroquinolonas. Como bien sabemos, las fluoroquinolonas (FQ) son un grupo de antimicrobianos ampliamente utilizados en medicina veterinaria debido a su amplio espectro, buena disponibilidad oral, rápida actividad bactericida, baja incidencia de efectos adversos, amplio volumen de distribución y bajas concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) para patógenos de interés (Prados y Waxman, 2011). En medicina herpetológica han sido utilizados para el tratamiento de problemas entéricos, respiratorios alto e infecciones por *Pseudomona aeruginosa* (especialmente ciprofloxacina) (Rojas-Santos, 2012). Así mismo, pueden causar alteración momentánea grave de la flora gramnegativa y grampositiva que se encuentra en el tracto gastrointestinal de estas especies y existen datos bibliográficos que demuestran una cierta tendencia a la anorexia o a alteraciones digestivas en reptiles herbívoros tras terapias prolongadas de antibióticos (Jacobson, 1980, 1999; Kaufmann, 1998). También, debido a su farmacocinética, se debe evitar su uso en animales que presenten compromisos renales (Rojas-Santos, 2012). No obstante, debido a tener un amplio espectro de actividad antimicrobiana que incluye principalmente bacterias aerobias gramnegativas (*Enterobacteriaceae*) y a su efectividad con bajas dosis, representan una buena herramienta en la terapéutica de infecciones bacterianas en reptiles (Gentilini, 2007; Rojas-Santos; 2012)

Por otro lado, los aminoglucósidos analizados: gentamicina 98.25% (112/114), neomicina 87.72% (100/114) y estreptomycinina 79.82% (91/114) también presentaron un alto porcentaje de

sensibilidad contra los aislados. Resultado que concuerda con el obtenido por **Marçal et al. (2008)**, quienes obtuvieron un máximo de 5.88% de resistencia con estos fármacos, y **Vargas et al. (2010)**, quienes obtuvieron un porcentaje de resistencia de 2.4%. Este grupo de antibióticos, si bien es uno de los pocos que se han estudiado en reptiles debido a su amplio espectro, también son considerados como buena alternativa terapéutica para tratar patologías que involucran bacterias grampositivas y gramnegativas, o en casos en los que la infección es profunda y se necesita un medicamento de alta penetración. Dentro de los cuadros de septicemia provocados por gramnegativos, encontramos que las bacterias más comunes en estos cuadros en reptiles son: *E.coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.*, *Providencia spp.*, *Salmonella spp.* y *Serratia spp* (Mitchell, 2006; Rojas-Santos, 2012).

Las fluoroquinolonas son una importante alternativa a los aminoglucósidos, ya que no son tan nefrotóxicas como estos (López *et al.*, 2013; Wargo y Edwards, 2014). Se han realizado estudios con gentamicina; en los cuales se reporta daño renal como el mayor efecto secundario (Rojas-Santos, 2012). La cefalosporina de tercera generación (ceftriaxona) presentó un menor grado de resistencia 2.63% (3/114) que la de segunda generación (cefuroxima) 17.54% (20/114). Este resultado concuerda por lo descrito por **Rojas-Santos (2012)**, quién afirma que los más efectivos de este grupo de antibióticos son los de tercera generación; puesto que tienen un efecto más amplio contra bacterias grampositivas y gramnegativas. Esto unido a la gran capacidad de distribución de este grupo, ofrecen una buena alternativa de tratamiento (penetran el sistema nervioso). Del mismo modo, **Marçal et al. (2008)** obtuvieron el mismo resultado. Cabe también mencionar que en reptiles no generan mayores efectos secundarios en animales con una función hepática y renal normal.

La sulfa potenciada (sulfatrimetropin) presentó un porcentaje de sensibilidad intermedio 12.28% (14/114) para todos los aislados. Si bien se han utilizado en reptiles para el tratamiento de infecciones respiratorias, cutáneas e infecciones por coccidias, cabe resaltar que su uso debe evaluarse ya que pueden generar nefrotoxicidad (Rojas-Santos, 2012). En medicina humana, principalmente en pediatría, su uso es frecuente en el manejo de ITU; sin embargo, hay estudios de investigación que demuestran porcentajes de resistencia mayor al 50% con este antibiótico. **Pinto et al (2011)** corroboran esta información al obtener 80% de resistencia. Así mismo, **Rendón et al (2012)** obtuvieron un 56.46% de resistencia; mientras que **Polanco y Loza (2013)** reportaron un 51.6% de resistencia antibiótica.

La alta resistencia antimicrobiana encontrada en este antibiótico es muy probable que se deba a su uso no racional en la práctica pediátrica general. Así mismo, este hallazgo merece una aten-

ción especial desde el punto de vista de salud pública por la tenencia de animales silvestres como mascotas.

Las cepas aisladas presentaron mayor resistencia a la tetraciclina con un 62.28% (71/114), resultado que es esperable ya que este antimicrobiano exhibe actividad contra diversos grupos de bacterias, motivo por el cual es ampliamente utilizado para terapia en infecciones humanas y para la prevención y control de infecciones en animales (Miko *et al.*, 2005). **López *et al.* (2009)**, corroboran esta información al obtener resistencia del 60% (12/20) de *Salmonella* y 19.5% (9/46) de *E.coli*. Así mismo, **Vargas *et al.* (2010)** encontraron un 28% de resistencia por parte de bacterias gramnegativas.

El ácido nalidíxico fue la primera quinolona clínicamente disponible. Sin embargo, debido a sus propiedades farmacocinéticas y aparición de cepas resistentes, su uso clínico es poco frecuente (Andriole, 1998). Dentro de las propiedades farmacocinéticas que presenta, la que más destaca es que no alcanza concentraciones antibacterianas sistémicas (sangre y tejidos) como la ciprofloxacina (Katzung, 2011). La aparición de bacterias resistentes a fluoroquinolonas se observó inmediatamente después de su introducción en la parte clínica para el tratamiento de infecciones en personas hospitalizadas (Wain *et al.*, 1997; Ruiz *et al.*, 1998; Thomson *et al.*, 1999 y Hooper, 2001). Para este estudio de investigación, se obtuvo un porcentaje de resistencia de 72.81% (83/114), resultado que concuerda con el obtenido por **Sanches *et al.* (2008)**, quienes obtuvieron 86.2% de resistencia al ácido nalidíxico y **Lautenbach *et al.* (2010)**, obtuvieron 74.83% de resistencia. La resistencia a las fluoroquinolonas se produce principalmente como resultado de mutaciones en los genes bacterianos *gyrA* y *parC* (Ruiz *et al.*, 1995; Everett *et al.*, 1996; Truong *et al.*, 1997; Ruiz *et al.*, 1998; Vila *et al.*, 1999 y Hooper, 2001; Wang *et al.*, 2001). El porcentaje tan alto de resistencia que arrojan las cepas expuestas al ácido nalidíxico se debe principalmente a mutaciones individuales producidas en una región conocida como la “región determinante de la resistencia a quinolonas” (QRDR) del gen *gyrA*, que codifica la enzima ADN girasa. Las mutaciones en los genes que codifican la topoisomerasa IV, en particular el gen *parC*, también se correlaciona con la sensibilidad reducida pero esto es más referente al grupo farmacológico en general (Everett *et al.*, 1996; Hooper, 1998; Hooper, 2001).

El factor más importante que debemos tener en cuenta en la patología de reptiles es la profilaxis rutinaria, sólo de esta manera se puede prevenir cualquier tipo de proceso en estos animales. Por ello se recomienda una disminución del estrés, sea originado por el transporte y/o manipulación; así mismo, se deben asegurar las condiciones de temperatura y humedad, realizar desinfecciones regulares de los ambientes en donde se albergan estas especies y realizar desparasitaciones y

controles bacteriológicos rutinarios. Principalmente, y como ya lo hemos mencionado anteriormente, hay que darle un enfoque especial a la temperatura ambiental. Como bien sabemos, los reptiles son poiquilotérmicos; es decir, su metabolismo depende de la temperatura ambiental; por lo tanto, la distribución, el metabolismo y la eliminación de los agentes antiinfecciosos dependerán directamente de la temperatura del recinto. Además, la temperatura corporal es un factor de la función inmune (Solorzáno, 2002); por tal razón, los reptiles enfermos deben mantenerse en el margen superior de su intervalo de temperatura (22.2-37°C) para poder activar la respuesta inmune, y evitar la acumulación del fármaco (Johnson *et al.*, 1997). Si el reptil es inmunocomprometido y está enfermo, entonces no será capaz de eliminar las bacterias remanentes si sólo se le administra un antibiótico bactericida (Jacobson, 2000).

VI. CONCLUSIONES

- Este estudio demuestra que al menos existen diecisiete diferentes especies de enterobacterias de la cloaca en el Lagarto caimán (*Dracaena guianensis*) de crianza en cautiverio en un zocriadero de Lima.
- Este estudio demuestra que la mayoría de enterobacterias aisladas de la cloaca en el Lagarto caimán (*Dracaena guianensis*) son sensibles a la mayoría de antibióticos evaluados en este estudio.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar más estudios de investigación epidemiológica que también determinen la resistencia bacteriana en especímenes del mismo género en otros centros de crianza.
- Establecer un programa de educación sanitaria en zocriaderos que mantengan esta especie para evitar la ocurrencia principalmente de enfermedades producidas por enterobacterias que conlleven a enfermedades de riesgo ocupacional.
- Debido a que se encontraron cepas de enterobacterias que están reconocidas como riesgo para la salud pública, sería recomendable que se realicen más estudios de identificación de mecanismos de patogenicidad (adhesinas, producción de toxinas, etc).

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Hernandez Aguirre C., Comercialización y Tenencia de Animales Silvestres Vivos como Mascotas en Jurisdicción del DAMA. Departamento Técnico Administrativo del Medio Ambiente-Subdirección Ambiental Sectorial: Recurso de Fauna Silvestres, Bogotá: 2004.
- 2) Ramsay EC, Daniel G, Tryon BW, Merryman JI, Morris PJ, Bemis DA. Osteomyelitis Associated with *Salmonella enterica ssp. arizonae* in a colony of Ridge-nose rattlesnakes (*Crotalus willardi*). J Zoo Wildl Med. 2002; 33(4): 301-310.
- 3) Saelinger CA, Lewbart GA, Christian LS, Lemons CL. Prevalence of *Salmonella spp.* in cloacal, fecal and gastrointestinal mucosal samples from wild North American Turtles. J Am Vet Med Assoc. 2006; 229 (2): 266-268.
- 4) Douglas R, Stephen J. Reptile Medicine and Surgery. 2nd ed. St. Louis: SAUNDERS ELSEVIER; 2006.
- 5) Lax AJ, Barrow PA, Jones PW, Wallis TS. Current Perspectives in Salmonellosis. Br Vet J. 1995; 151 (4): 351-377.
- 6) Ramsay EC, Daniel GB, Tryon BW, Merryman JI, Morris PJ, Bemis DA. Osteomyelitis Associated with *Salmonella enterica ssp. arizonae* in a colony of Ridge-nose rattlesnakes (*Crotalus willardi*). J Zoo Wildl Med. 2002; 33(4): 301-310.
- 7) Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Hartigan PJ, Fanning S, FitzPatrick EA. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. 1st ed. USA: Wiley-Blackwell; 2002.
- 8) Stanchi NO. Microbiología Veterinaria. 2nd ed. Martino PE, Gentilini E, Reinoso EH, Echeverría MG, Leardini NA, Copes JA, editors. Buenos Aires: Intermedica; 2007.
- 9) Biberstein EL, Chung Zee Y. Tratado de Microbiología Veterinaria. 2nd ed. España: ACRIBIA; 1994.

- 10) Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. Microbiología Médica. 10th ed. México: Manual Moderno; 2005.
- 11) Biberstein EL, Chung Zee Y. Review of Veterinary Microbiology. 1st ed. New York: Blackwell Science; 1990.
- 12) Baümöler AJ, Tsolis RM, Fitch TA, Adams LG. Evolution of host adaptation in *Salmonella enterica*. ASM. 1998; 66 (10): 4579-4587.
- 13) Muñoz N, Agudelo CI, Ovalle MV, Realpe MH. Vigilancia en red de serotipos y la susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* y *Vibrio cholerae*. Biomedica. 2000; 20(3): 210-217.
- 14) Pianka ER, Vitt LJ. Lizards: Windows to the evolution of Diversity. 1st ed. E.E.U.U: University Press Group Ltd; 2006.
- 15) Burt CE, Burt MD. South American Lizards in the Collection of the American Museum of Natural History. AMNH. 1931; 61 (7): 227-395.
- 16) Dunn ER. The Lizard genera *Anadia* and *Ptychoglossus* in Colombia. Caldasia. 1944; 3(11):64-68.
- 17) Tamsitt JR, Valdivieso D. Teiid Lizards of the genus *Kentropyx spp.* in Colombia. In: Medem F, Capocaccia L, Cochran DM, Cochran JA, Kustos J, editors. *Kentropyx*. Colombia: Universidad de los Andes-Departamento de Biología; 1963.p.443.
- 18) Presch WF. Evolutionary relationships and biogeography of the macroteiid lizards (Family *Teiidae*, Subfamily *Teiinae*). Bull South Calif Acad Sci. 1974; 73:23-32.
- 19) Hower LM, Hedges SB. Molecular Phylogeny and Biogeography of West Indian Teiid Lizards of the Genus *Ameiva*. CARIBB J SCI. 2003; 39(3): 298-306.
- 20) Bocourt MF. Deux notes sur quelques sauriens de l'Amérique tropicale. Ann Sci Nat Zool. Paris. 1874; 5(19): 1-5.
- 21) Jordan Juan C. Repartición de recursos en dos especies simpátricas de *Ameiva* (Sauria: *Teiidae*) en el Bosque Nacional Cerros de Amotapes. Tesis doctoral. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
- 22) Carrillo N, Icochea J. Lista taxonómica preliminar de los reptiles vivientes del Perú. Public. Mus Hist. Nat. (UNMSM). 1995; 49:1-27.

- 23) Wagner SG. Natürliches System der Amphibien, mit vorangehender Classification der Säugthiere und Vögel. In: München AT, Stuttgart MG, Tübinger HE, editors. Gernay: Smithsonian Institution; 1830.p. 7-354.
- 24) Maslin T, Secoy D. A checklist of the lizard genus *Cnemidophorus* (Teiidae): Contributions in zoology. 1st ed. Boulder: University of Colorado Museum; 1986.
- 25) Wright JW. Evolution of the lizards of the genus *Cnemidophorus*. In: Wright JW, Vitt LJ, editors. Biology of the whiptail lizards (genus *Cnemidophorus*). Oklahoma: Oklahoma Mus. Nat. Hist: 1993. p. 27-81.
- 26) Peters JA, Donoso-Barros R. Catalogue of the Neotropical Squamata Part II Lizards and Amphisbaenians. 1st ed. Washington DC: Smithsonian Institution Press; 1986.
- 27) Peccinini-Seale D, Frota-Pessoa O. Structural heterozygosity in parthenogenetic populations of *Cnemidophorus lemniscatus* (Sauria, Teiidae) from the Amazonas Valley. Chromosoma. 1974; 47(4): 439-451.
- 28) Ávila-Pires T. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). Zoologische Verhandlungen Leiden. 1995; 299(1): 1-706.
- 29) Cole CJ, Dessauer HC. Unisexual and bisexual whiptail lizards of the *Cnemidophorus lemniscatus* complex (Squamata: teiidae) of the Guiana Region, South America, with descriptions of new species. Am. Mus. Novitates. 1993; 3081:1-30.
- 30) Markezich AL, Cole CJ, Dessauer HC. The blue and green whiptail lizards (Squamata: Teiidae: *Cnemidophorus*) of the peninsula de Paraguana, Venezuela: Systematics, ecology, descriptions of two new taxa, and relationships to whiptails of the Guianas. Am. Mus. Novitates. 1997; 3207:1-60.
- 31) Scollins T. Caiman Lizards: Snail Smashers from South America. The Natural History Society of Maryland, 29(4), 2002.
- 32) Vitt LJ, Carvalho CM. Life in the trees: the ecology and life history of *Kentropyx striatus* (Teiidae) in the lavrado area of Roraima, Brazil, with comments on the life histories of tropical teiid lizards. Can J Zool. 1992; 70(10): 1995-2006.
- 33) Casas-Andreu G, Currola-Hidalgo MA. Comparative ecology of two species of *Cnemidophorus* in central Jalisco, México. In: Wright JW, Vitt LJ, editors. Biology of whiptail lizards (genus *Cnemidophorus*). Oklahoma: AMNH. 1993. p. 133-150.

- 34) Daudin P.M. Histoire naturelle, générale et particulière des reptiles. 1st éd. Paris. Durrant, 1801.
- 35) Massary JC, Hoogmoed MS, Blanc M. Comments on the type specimen of *Dracaena guianensis* Daudin, 1801 (Reptilia: Sauria: Teiidae), and rediscovery of the species in French Guiana. Zool Med Leiden. 2000; 74(9):167-180.
- 36) Pautrat L, Ángulo I, Germana C, Uchima C, Castillo R, Candela M. Manual de identificación de especies peruanas de flora y fauna silvestre susceptibles al comercio ilegal. 2nd ed. Lima: APECO; 2002.
- 37) Prats G. Microbiología Clínica. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2005.
- 38) Rahn O. New principles for the classification of bacteria. Zentralblatt für Bakteriologie, Infektionskrankheiten and Hygiene. Abt. 2. 1937; 96: 273-286.
- 39) Castellani AS, Chalmers A J. Manual of Tropical Medicine. 3rd ed. New York: Springer; 1919.
- 40) Nature Reviews Microbiology [Internet]. E.E.U.U: Macmillan Publishers Limited. c2007 - [cited 2015 Jun 16]. Available: <http://www.nature.com/nrmicro/journal/v5/n12/full/nrmicro1810.htm>.
- 41) Euzéby J. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature. Int J Syst Bacteriol. 1997; 47(2):590-592.
- 42) Famille Enterobacteriaceae [Internet]. Francia: AT Microbiologie. c2005 - [cited 2015 Jun 16]. Available: <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/ee/enterobacteriaceae.html>.
- 43) Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. Trends Microbiol. 1996; 4(11): 430-435.
- 44) Gordon DM, Cowling A. The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. Microbiology. 2003; 149(Pt 2): 3575-3586.
- 45) Huang D, Mohanty A, DuPont H, Okhuysen P, Chiang T. A review of an emerging enteric pathogen: enteroaggregative *Escherichia coli*. Journal of Medical Microbiology 2006; 5: 1303-1311.

- 46) Kaper JB, Nataro JF, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol. 2004; 2(2): 123-140.
- 47) Solo-Gabriele HM, Wolfert MA, Desmarais TR, Palmer CJ. Sources of *Escherichia coli* in a coastal subtropical environment. Appl Environ Microbiol. 2000; 66(1):230-237.
- 48) Power ML, Littlefield-Wyer J, Gordon DM, Veal DA, Slade MB. Phenotypic and genotypic characterization of encapsulated *Escherichia coli* isolated from blooms in two Australian lakes. Environ Microbiol. 2005; 7(5): 631-640.
- 49) Mitsuoka T, Hayakawa K. The fecal flora of man. I Communication: The composition of the fecal flora of different age groups. ZBL BAKT-INT J MED M. Deutschland.1972; 223: 333-342.
- 50) Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, Van den Brandt PA, Stobberingh EE. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. J Pediatr. 2006; 118(2): 511-521.
- 51) Slanetz LW, Bartley CH. Numbers of enterococci in water, technique with an improved medium. J Bacteriol. 1957; 74(5):591-595.
- 52) Poulsen LK, Lan F, Kristensen CS, Hobolth P, Molin S, Krogfelt KA. Spatial distribution of *Escherichia coli* in the mouse large intestine inferred from rRNA *in situ* hybridization. Infect Immun. 1994; 62(11):5191-5194.
- 53) Freter R, Brickner H, Fekete J, Vickerman MM, Carey KE. Survival and implantation of *Escherichia coli* in the intestinal tract. Infect Immun. 1983; 39(2):686-703.
- 54) Chang DE, Smalley DJ, Tucker DL, Leatham MP, Norris WE, Stevenson SJ, *et al.* Carbon nutrition of *Escherichia coli* in the mouse intestine. Proc Natl Acad Sci USA. 2004; 101(19):7427-7432.
- 55) Jones SA, Chowdhury FZ, Fabich AJ, Anderson A, Schreiner DM, House AL, *et al.* Respiration of *Escherichia coli* in the mouse intestine. Infect Immun. 2007; 75(10):4891-4899.
- 56) Licht TR, Tolker-Nielsen T, Holmstrom K, Krogfelt KA, Molin S. Inhibition of *Escherichia coli* precursor-16S rRNA processing by mouse intestinal contents. Environ Microbiol. 1999; 1(1):23-32.

- 57) Kang CC, Licht TR, Middelton T, Conway TE, Chao L, Rogier KA, et al. Estimation of growth rates of *Escherichia coli* BJ4 in Streptomycin-treated and previously germfree mice by *in situ* rRNA hybridization. Clin Diagn Lab Immun. 1999; 6(3):434-436.
- 58) Syed SA, Abrams GD, Freter R. Efficiency of various intestinal bacteria in assuming normal functions of enteric flora after association with germ-free mice. Infect Immun. 1970; 2(4):376-386.
- 59) Bettelheim KA, Lennox-King SM. The acquisition of *Escherichia coli* by new-born babies. J Infect. 1976; 4(3):174-179.
- 60) Vidal JE, Canizález Román A, Gutiérrez-Jiménez J, Navarro-García F. Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógeno. Revista Salud Pública de México 2007 (Setiembre-Octubre); 49 (5): 376-386.
- 61) Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Elementos de Microbiología. 1era ed. España: ACRIBIA; 2004.
- 62) Baylis C, Uyttendaele M, Joosten H, Davies A. The *Enterobacteriaceae* and their significance to the food industry. Belgium: ILSI; 2011.
- 63) Brenner DJ, Krieg NR, Staley JR, Garrity G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria. 2nd ed. New York: Springer-Verlag; 2005.
- 64) Baylis CL, Penn CW, Thielman NM, Guerrant RL, Jenkins C, Gillespie SH. *Escherichia coli* and *Shigella spp.* In: Gillespie SH, Hawkey PM, editors. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. England: John Wiley and Sons Ltd; 2006. p. 347-365.
- 65) Iversen C, Lehner A, Mullane N, Bidlas E, Cleenwerk I, Marugg J, Fanning S, Stephan R, Joosten H. The Taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter* gen. nov. and descriptions of *Cronobacter sakazakii* comb. nov., *Cronobacter sakazakii* subsp. *malonaticus* subsp. nov., *Cronobacter turicensis spp.* nov., *Cronobacter muytjensii spp.* nov., *Cronobacter dublinensis spp.* nov. and *Cronobacter genomospecies 1*. BMC Evol Biol. 2007; 17:7-64.
- 66) Iversen C, Mullane N, McCardell B, Tall BD, Lehner A, Fanning S, Stephan R, Joosten H. *Cronobacter* gen. nov., a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii* gen. nov., comb. nov., *Cronobacter*

- maionianus* spp. nov., *Cronobacter turicensis* spp. nov., *Cronobacter mayjensis* spp. nov., *Cronobacter dublinensis* spp. nov., *Cronobacter genomospecies* 1, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *Dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridi* subsp. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 2008 Jun; 58(Pt6):1442-1447. doi: 10.1099/ijss. 0. 65577-0. PubMed PMID: 18523192.
- 67) Kanki M, Yoda T, Tsukamoto T, Shibata T. *Klebsiella pneumoniae* produces no histamine: *Raoultella planticola* and *Raoultella ornithinolytica* strains are histamine producers. Appl Environ Microbiol. 2002 Jul 68(7); 3462-3466. doi: 10.1128/AEM.68.7.3462-3466.2002. PubMed Central PMCID: PMC126807.
- 68) Christensen H, Nordentoft S, Olson JE. Phylogenetic relationships of *Salmonella* based on rRNA sequences. Int J Syst Bacteriol. 1998; 48 (Pt2):605-610.
- 69) Vadillo S, Piriz S, Mateos EM. Manual de Microbiología Veterinaria. 1st ed. Madrid, España: McGraw-Hill/Interamericana; 2003.
- 70) Valdés Dapena MM. Enterobacterias. La Habana, Cuba: Editorial Ciencia Médica; 2001.
- 71) Lazo L, Dahbi G, Blanco M, Blanco JE, Blanco J, Blanco LI. Aplicación de técnicas moleculares en la caracterización de aislados de *Escherichia coli* procedentes de cerdos con síndrome diarreico en la provincia de Villa Clara. Revista Salud Animal. 2009; 31 (2): 93-104.
- 72) Iguchi A, Thomson NR, Ogura Y, Saunders D, Ooka T, Henderson IR, *et al.* Complete Genome Sequence and Comparative Genome Analysis of Enteropathogenic *Escherichia coli* O127:H6 Strain E2348/69. J Bacteriol. 2009; 191:374-354.
- 73) Luo W, Sonnenberg MS. Analysis of the Function of Enteropathogenic *Escherichia coli* Esp B by random mutagenesis. Infect Immun. 2006 Feb; 74(2): 810-820. doi: 10.1128/IAI.74.2.810.-820.2006. PubMed Central PMCID: PMC1360311.
- 74) Dean P, Maresca M, Schüller S, Phillips AD, Kenny B. Potent diarrheagenic mechanism mediated by the cooperative action of three enteropathogenic *Escherichia coli*-injected effector proteins. Proc Natl Acad Sci USA. 2006; 103(6): 1876-1881.
- 75) Deng W, Puente JL, Gruenheid S, Li Y, Vallance BA, Vázquez A. *et al.* Dissecting virulence: systematic and functional analyses of a pathogenicity island. Proc Natl Acad Sci

USA. 2004 Mar 9; 101(10):3577-3602. doi: 10.1073/pnas.0400520101. PubMed Central
 PMID: PMC373508.

- 76) Dean P, Kenny B. The effector repertoire of enteropathogenic *Escherichia coli*: ganging upon the host cell. *Curr Opin Microbiol.* 2009 Feb; 12(1):101-109. doi: 10.1016/j.mib.2008.11.006. PubMed PMID: 19144561; PubMed Central PMCID: PMC2697328.
- 77) Garmendia J, Frankel G, Crepin VF. Enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections: translocation, translocation, translocation. *Infect Immun.* 2005 May; 73(5):2573-2585. doi: 10.1128/IAI.73.5.2573-2585.2005. PubMed Central PMCID: PMC1087358.
- 78) Mellies J, Barron A, Carmona A. Enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* virulence gene regulation. *Infect Immun.* 2007; 75(9): 4199-4210.
- 79) Yang J, Tauschek M, Hart E, Hartland EL, Robins-Browne RM. Virulence regulation in *Citrobacter rodentium*: the art of timing. *Microb Biotechnol.* 2010 May; 3(3): 259-268. doi: 10.1111/j.1751-7915.2009.00114. PubMed PMID: 21255326; PubMed Central PMCID: PMC3815369.
- 80) Duguid JP, Smith IW, Dempster G, Edmunds PN. Non-flagellar filamentous appendages (fimbriae) and haemagglutinating activity in *Bacterium coli*. *J Pathol Bacteriol.* 1955; 53: 335-355.
- 81) Markey B, Leonard F, Archambault M, Culliname A, Maguire D. *Clinical Veterinary Microbiology.* 2nd ed. Scotland: Mosby/Elsevier; 2013.
- 82) Hirsh DC, Maclachlan NJ, Walker RL. *Veterinary Microbiology.* 2nd ed. Ames, Iowa. Blackwell Pub; 2004.
- 83) Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW. *Manual of Clinical Microbiology.* 10th ed. Washington DC: ASM Press; 2011.
- 84) O'Brien AD, Holmes RK. Protein toxins of *Escherichia coli* and *Salmonella*. In: Neidhart F, Curtis II J, Ingraham J, Lin E, Low K, Magasanik B, Reznikoff W, Riley M, Schaechter M, Umberger H, editors. *Escherichia coli* and *Salmonella: Cellular and Molecular Biology.* Washington: ASM; 1996. p. 2788-2802.

- 85) Hirst LR, Ruckoek LW, Finlay JB, Echeverría A. Membrane translocation and targeting of cholera toxin and related enterotoxins in prokaryotic and eukaryotic systems. *ZBL BAKT S. Deutschland*. 1998; 29: 113-120.
- 86) Smith HW, Halls S. Studies of *Escherichia coli* enterotoxin. *J Pathol Bacteriol*. 1967; 93:531-543.
- 87) Forte LR, Thorne PK, Eber SL, Krause WJ, Freeman RH, Francis SH, Corbin JD. Stimulation of intestinal Cl^- transport by heat-stable enterotoxin: activation of cAMP-dependent protein kinase by cGMP. *Am J Physiol*. 1992; 263(3): 607-615.
- 88) Polifroni R, Etcheverría A, Padola N, Parma A. *Escherichia coli* verocitotoxigénico (VTEC). Características de virulencia y persistencia en el medio ambiente. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal* 2009 (Enero-Junio); 11(1):65-70.
- 89) Pociello Blanc Vanessa. Caracterización de cepas y de plásmidos de *Enterobacteriaceae* portadores de β -lactamasas de espectro extendido. Tesis doctoral. España: Universidad Autónoma de Barcelona; 2007.
- 90) Ochoa TJ, Contreras CA. Enteropathogenic *Escherichia coli* infection in children. *Curr Opin Infect Dis*. 2011 Oct 24. doi: 10.1097/QCO.0b013e32834a8b8b. PubMed PMID: 21857511; PubMed PMCID: PMC3277943.
- 91) Vidal JE, Canizález A, Gutiérrez J, Navarro F. Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. *Salud Pública de México*. 2007; 49(5):376-386.
- 92) Elsinghorst EA, Weitz JA. Epithelial cell invasion and adherence directed by the enterotoxigenic *Escherichia coli* *tib* locus is associated with a 104-kilodalton outer membrane protein. *Infection and Immunity*. 1994; 62(8): 3463-3471.
- 93) Orskov I, Orskov F. Serology of *Escherichia coli* fimbriae. *Prog Allergy*. 1983; 33:80-105.
- 94) Rippinger P, Bertschinger H, Imberechts H, Nagy B, Sorg I, Stamm M, Wild P., Wittig W. Designations F18ab and F18ac for the related fimbrial types F107, 2134P and 8813 of *Escherichia coli* isolated from porcine post-weaning diarrhea and from oedema disease. *Vet Microbiol*. 1995; 45(4):281-295.

- 95) Sherman D, Acres S, Sadowski T, Springer J, Bray D, Kayboudi T, Muscoplat C. Protection of calves against fatal enteric colibacillosis by orally administered *Escherichia coli* k99-specific monoclonal antibody. *Infect Immun*. 1983; 42(2): 653-658.
- 96) Alarcón R, Li J. Serotipificación de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en cuadros diarreicos agudos de niños menores de cinco años: Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé. Tesis doctoral. Lima: Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2000.
- 97) Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2004; 2(2):123-140.
- 98) Turnbull PC. Food poisoning with special reference to *Salmonella*: its epidemiology pathogenesis and control. *Clin Gastroenterol*. 1979; 8(3):663-714.
- 99) Selbitz HJ, Sinell HJ, Sziegoleit A. Das Salmonellen-Problem: Salmonellen als Erreger von Tierseuchen und Zoonosen. 1st ed. Deutschland: VET Special; 1995.
- 100) Lujan M, Blas G. *Salmonella*. 1 st ed. Buenos Aires: Intermedica; 2007.
- 101) Pumarola A., Rodriguez A., Garcia J., Piedrola G. Microbiología y Parsitología Médica. 2da. Ed. Barcelona: Masson S.A; 1987.
- 102) Joklik W, Willet HP, Amos B, Wilfert C. Zinsser, Microbiología. 20va. ed. Madrid: Panamericana; 1994.
- 103) Zamudio ML, Meza A, Bailón H, Martínez-Urtaza J, Campos J. Experiencia en la vigilancia epidemiológica de agentes patógenos a través de electroforesis en campo pulsado (PFGE) en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2011; 28(1): 128-135.
- 104) Mahajan RK, Khan SA, Chandel DS, Kumar N, Hans C, Chaudhry R. Fatal case of *Salmonella enteric subsp. arizonae* gastroenteritis in an infant with microcephaly. *J Clin Microbiol*. 2003; 41(12):5830-5832.
- 105) Center for Disease Control and Prevention [Internet]. Atlanta (USA). Journal of the American Medical Association. c2007 - [cited 2015 Jun16]. Available: <http://www.cdc.gov/salmonella/4512eyeminus.html>
- 106) Caffer MI, Terragno R. Manual de procedimientos para la caracterización de *Salmonella*. Buenos Aires: INEI; 2001.

- 107) Knochel LW, Allen S. Microbiological diagnosis. 5th ed. Argentina. La Medica Panamericana; 1999.
- 108) Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. Microbiología Médica. 18th ed. México: Manual Moderno; 2005.
- 109) Muñoz N, Agudelo CI, Ovalle MV, Realpe MH. Vigilancia en red de serotipos y la susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio cholerae*. Biomédica. 2000; 20: 210-217.
- 110) Bailey A, Scott D. Diagnóstico Microbiológico. 12th ed. Forbes BA, Sahm D, Weisfeld A, editors. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana; 1982.
- 111) Terragno R, Caffer M, Bruna S, Binsztein N. Manual de Procedimientos. *Salmonella*: Parte I. Aislamiento, Identificación y Serotipificación. Buenos Aires: Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas de Buenos Aires; 2003.
- 112) Parra M, Durango J, Máttar S. Microbiología, Patogénesis, Epidemiología, Clínica y Diagnóstico de las Infecciones producidas por *Salmonella*. Revista MVZ Córdoba. 2002; 7(2): 187-200.
- 113) Smith DT, Conant NF, Beard J. Zinseer's textbook of bacteriology. 10th ed. USA: Appleton-Century-Crofts; 1952.
- 114) Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Biología de los Microorganismos de Brock. 8th ed. España: Prentice Hall; 1997.
- 115) Salyers AA, Whitt DD, Wilson BA, Winkler ME. Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach. 2nd.ed. Washington: ASM; 2002.
- 116) Parry CM, Hien TT, Dougan G, White NJ, Farrar JJ. Typhoid fever. N Engl J Med. 2002; 347(22):1770-1782.
- 117) Parker M, Collier L. Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. 8th ed. London: Edward Arnol; 1990.
- 118) Martinez A, Carámbula B, Algorta G. Origen y distribución de serotipos de *Salmonella* 2003-2009. Centro Nacional de Salmonella, Montevideo, Uruguay. 2010
- 119) Wordward DL, Khakhria R, Johnson WM. Human salmonellosis associated with exotic pets. J Clin Microbiol. 1997; 35(11):2786-2790.

- 120) Figueroa Ivi, Verdugo A. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* spp. ALAM. 2005; 47(1-2):25-42.
- 121) Adelantado C, Arosemena L, Calvo M, Manteca L, Martín M, Ordóñez G, *et al.* Patogénesis y reacción inmunitaria frente a *Salmonella* spp. En: Adelantado C, Arosemena L, Calvo M, Manteca L, Martín M, Ordóñez G y *et al.*, editores. *Salmonella*, de actualidad desde siempre. Barcelona: Elsevier; 2008.p. 39-50.
- 122) Parra M, Durango J, Mattar S. Microbiología, Patogénesis, Epidemiología, Clínica y Diagnóstico de las Infecciones producidas por *Salmonella*. Revista MVZ Córdoba. 2002; 7(2):187-200.
- 123) Pachón Cubillos D. 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. [Tesis doctoral]. Villavicencio: Facultad de Ciencias de Microbiología Agrícola y Veterinaria, Pontificia Universidad Javeriana de Colombia; 2009.
- 124) Hirsh D. Tratado de Microbiología Veterinaria. 1st ed. Zaragoza, España: Editorial ACRIBIA S.A; 2006.
- 125) Blaser MJ, Newman LS. A review of human salmonellosis: I. Infective dose. Rev Infect Dis. 1982 Nov-Dec; 4(6). PubMed PMID 6760337
- 126) Hinton MH. *Salmonella* abortion in cattle. Veterinary Bulletin. 1971; 41: 973-980.
- 127) Barrow PA, Lovell MA. Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. Avian Pathol. 1991; 20(2): 335-348.
- 128) Niyogi SK. Shigellosis. J Microbiol. 2005; 43(2):133-143.
- 129) Simmons DA, Romanowska E. Structure and biology of *Shigella flexneri* O antigens. J Med Microbiol. 1987; 23(4):289-302.
- 130) Bopp CA, Brenner FW, Fields PI, Wells JG, Strockbine NA. *Escherichia*, *Shigella* and *Salmonella*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM; 2003. p. 654-671.

- 131) KOUHON RL, WHITKRON ST, IVARON B, CLEMENS JD, SWEDLOW DL, SANSONETTI PJ, *et al.*
 Global burden of *Shigella* infections: Implications for vaccine development and implementation of control strategies. *Bull World Health Organ.* 1999; 77(8):651-666.
- 132) Díaz LT, Valdés-Dapena M, Caballero TA, Monterrey P. Enfermedades transmitidas por alimentos: Causas más frecuentes en los niños. La Habana: Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos; 2000.
- 133) Khan AI, Faruque AS, Malek MA, Hug S, Salam MA, Sack DA. Diarrhea in elderly people: etiology, and clinical characteristics. *Scand J Infect Dis.* 2004; 36(3): 204-208.
- 134) Chuang YY, Huang YC, Lin SY. Outbreak of *Shigella sonnei* gastroenteritis in North-eastern Taiwan. *Pediatr Infect Dis J.* 2006; 25(1): 92-94.
- 135) Molina J, Uribarren T. Infecciones por *Shigella* spp [Internet]. México: Universidad Nacional Autónoma de México. c2016 - [cited 2015 Jun 16]. Available: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/shigella.html>.
- 136) Terragno R, Caffer MI, Binsztein N. Manual de Procedimientos: Diagnóstico y caracterización de *Shigella* spp. 3rd ed. Argentina: ANLIS-Departamento de Bacteriología; 2007.
- 137) Romero R. Microbiology and Human Parasitology: Etiological Basis of Infectious and Parasitic Diseases. 3rd ed. México, D.F: Editorial Panamericana S.A.; 2007.
- 138) Hale TL. Genetic basis of virulence in *Shigella* species. *Microbiol Rev.* 1991; 55(2):206-224.
- 139) Ménard R, Dehio C, Sansonetti PJ. Bacterial entry into epithelial cells: the paradigm of *Shigella*. *Trends Microbiol.* 1996; 4(6): 220-226.
- 140) Perdomo OJ, Cavaillon JM, Huerre M, Ohayon H, Gounon P, Sansonetti PJ. Acute inflammation causes epithelial invasion and mucosal destruction in experimental shigellosis. *J Exp Med.* 1994; 180(4): 1307-1319.
- 141) Wassef JS, Keren DF, Mailloux JL. Role of M cells in initial antigen uptake and in ulcer formation in the rabbit intestinal loop model of shigellosis. *Infect Immun.* 1989; 57(3): 858-863.

- 142) Zychlinsky A, Prevost MC, Sansonetti PJ. *Shigella flexneri* induces apoptosis in infected macrophages. *Nature*. 1992; 358(6382):167-169.
- 143) Zychlinsky A, Fitting C, Cavaillon JM, Sansonetti PJ. Interleukin-1 is released by murine macrophages during apoptosis by *Shigella flexneri*. *J Clin Invest*. 1994; 94(3):1328-1332.
- 144) Sansonetti PJ, Phalipon A, Arondel J, Thirumalai K, Banerjee S, Akira S, *et al*. Caspase-1 activation of Il-1b and Il-18 are essential for *Shigella flexneri* induce inflammation. *Immunity*. 2000; 12(5): 581-590.
- 145) Sansonetti PJ, Arondel J, Cavaillon JM, Huerre M. Role of Il-1 in the pathogenesis of experimental shigellosis. *J Clin Invest*. 1995; 96(2): 884-892.
- 146) Labrec EH, Schneider H, Magnani TJ, Formal SB. Epithelial cell penetration as an essential step in the pathogenesis of bacillary dysentery. *J Bacteriol*. 1964; 88(5):1503-1518.
- 147) Sansonetti PJ, Arondel J. Construction and evaluation of a double mutant of *Shigella flexneri* as a candidate for oral vaccination against shigellosis. *Vaccine*. 1989; 7(5):443-450.
- 148) High N, Mounier J, Prévost MC, Sansonetti PJ. IpaB of *Shigella flexneri* causes entry into epithelial cells and escape from the phagocytic vacuole. *EMBO J*. 1992; 11(5):1991-1999.
- 149) Chen Y, Smith MR, Thirumalai K, Zychlinsky A. A bacterial invasion induces macrophage apoptosis by directly binding ICE. *EMBO J*. 1996; 15(15):3853-3860.
- 150) Ménard R, Sansonetti P, Parsot C. The secretion of the *Shigella flexneri* Ipa invasins is activated by epithelial cells and controlled by IpaB and IpaD. *EMBO J*. 1994; 13(22):5293-5302.
- 151) Hilbi H, Chen Y, Thirumalai K, Zychlinsky A. The interleukin 1 β -converting enzyme, caspase 1, is activated during *Shigella flexneri*- induced apoptosis in human monocyte-derived macrophages. *Infect Immun*. 1997; 65(12):5165-5170.
- 152) Zychlinsky A, Kenny B, Ménard R, Prévost MC, Holland IB, Sansonetti PJ. IpaB mediates macrophage apoptosis induced by *Shigella flexneri*. *Mol Microbiol*. 1994; 11(4):619-627.

- 153) Hohl H, Moss JE, Hersh D, Chen F, Alonder S, Banerjee S, et al. *Shigella*-induced apoptosis is dependent on caspase-1 which binds to IpaB. *J Biol Chem.* 1998; 273(49):32895-32900.
- 154) Baudry B, Kaczorek M, Sansonetti PJ. Nucleotide sequence of the invasion plasmid antigen B and C genes (*ipaB* and *ipaC*) of *Shigella flexneri*. *Microb Pathog.* 1988; 4(5):345-357.
- 155) Hakansson S, Bergman T, Vanooteghem JC, Cornelis G, Wolf-Watz H. YopB and YopD constitute a novel class of *Yersinia* Yop proteins. *Infect Immun.* 1993; 61(1):71-80.
- 156) Kaniga K, Tucker S, Trollinger D, Galán JE. Homologs of the *Shigella* IpaB and IpaC invasins are required for *Salmonella typhimurium* entry into cultured epithelial cells. *J Bacteriol.* 1995; 177(14):3965-3971.
- 157) Hermant D, Ménard R, Arricau N, Parsot C, Popoff MY. Functional conservation of the *Salmonella* and *Shigella* effectors of entry into epithelial cells. *Mol Microbiol.* 1995; 17(4):781-789.
- 158) Hueck CJ, Hantman MJ, Bajaj V, Johnston C, Lee CA, Miller SI. *Salmonella typhimurium* secreted invasion determinants are homologous to *Shigella* Ipa proteins. *Mol Microbiol.* 1995; 18(3):479-490.
- 159) Hersh D, Monack DM, Smith MR, Ghori N, Falkow S, Zychlinsky A. The *Salmonella* invasion SipB induces macrophage apoptosis by binding to caspase-1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999; 96(5):2396-2401.
- 160) Mills SD, Boland A, Sory MP, Van der Smissen P, Kerbouch C, Finlay BB, et al. *Yersinia enterocolitica* induces apoptosis in macrophages by a process requiring functional type III secretion and translocation mechanisms and involving YopP, presumably acting as an effector protein. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997; 94(23): 12638-12643.
- 161) Monack DM, Mecsas J, Ghori N, Falkow S. *Yersinia* signals macrophages to undergo apoptosis and YopJ is necessary for this cell death. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997; 94(19):10385-10390.
- 162) Hakansson S, Schesser K, Persson C, Galyov EE, Rosqvist R, Homblé F, et al. The YopB protein of *Yersinia pseudotuberculosis* is essential for the translocation of Yop ef-

- receptor proteins across the target cell plasma membrane and displays a contact-dependent membrane disrupting activity. *EMBO J.* 1996; 15(21):5812-5823.
- 163) Lee VT, Schneewind O. Type III machines of pathogenic yersiniae secrete virulence factors into the extracellular milieu. *Mol Microbiol.* 1999; 31(6):1619-1629.
- 164) Lindberg AA, Kärnell A, Weintraub A. *Reviews of Infectious Diseases: The Lipopolysaccharide of Shigella Bacteria as a Virulence Factor.* 8th ed. USA: Oxford University Press; 1991.
- 165) Phalipon A, Sansonetti PJ. Shigellosis: innate mechanisms of inflammatory destruction of the intestinal epithelium, adaptive immune response, and vaccine development. *Crit Rev Immunol.* 2003; 23(5-6):371-401.
- 166) Mathan MM y Mathan VI. Morphology of rectal mucosa of patients with Shigellosis. *Rev Infect Dis.* 1991; 13 Suppl 4:S314-318.
- 167) Speelman P, Kabir I, Islam M. Distribution and Spread of Colonic Lesions in Shigellosis: A Colonoscopic Study. *J Infect Dis.* 1984; 150(6):899-903.
- 168) Lázaro Izquierdo L. Biosíntesis del lipopolisacárido de *Klebsiella pneumoniae*. [Tesis]. Barcelona: Departamento de Microbiología, Universidad de Barcelona; 2003.
- 169) Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. As nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11:589-603.
- 170) Podschun R, Heineken P, Ullmann U, Sonntag HG. Comparative investigations of *Klebsiella* species of clinical origin: plasmid patterns, biochemical reactions, antibiotic resistances and serotypes. *Zentbl bacteriology Mikrobiology Hyg Ser A.* 1986; 262(3):335-345.
- 171) Cowan ST, Steel KJ, Shaw C, Duguid JP. A classification of the *Klebsiella* group. *J Gen Microbiol.* 1960; 23:601-612.
- 172) Orskov I. Genus *Klebsiella*. In: Krieg NR, Holt JG, editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Baltimore: The Williams & Wilkins Co; 1984. p. 461-465.

- 173) Gavini F, Leclerc H, Leclerc H, Ferragut C, Izard D. Etude taxonomique de *Enterobacteriaceae* appartenant ou apparentées au genre *Klebsiella*. Ann Microbiol. French. 1977; 128B (1):45-49.
- 174) Izard D, Ferragut C, Gavini F, Kersters K, De Ley J, Leclerc H. *Klebsiella terrigena*, a new species from soil and water. Int J Syst Evol Microbiol. 1981; 31(2):116-127.
- 175) Sakazaki R, Tamura K, Kosako Y, Yoshizaki E. *Klebsiella ornithinolytica* sp. nov., formerly known as ornithine-positive *Klebsiella oxytoca*. Curr Microbiol. 1989; 18(4):201-206.
- 176) Bagley ST, Seidler RJ, Brenner DJ. *Klebsiella planticola* sp. nov., a new species of Enterobacteriaceae found primarily in nonclinical environments. Curr Microbiol. 1981; 6(2):105-109.
- 177) Ferragut C, Izard D, Gavini F, Kersters K, De Ley J, Leclerc H. *Klebsiella trevisanii*, a new species from water and soil. Int J Syst Evol Microbiol. 1983; 33(2):133-142.
- 178) Gavini F, Izard D, Grimont PA, Beji A, Ageron E., Leclerc H. Priority of *Klebsiella planticola*. Int J Syst Evol Microbiol. 1986; 36(3):486-488.
- 179) Mori M, Ohta M, Agata N, Kido N, Arakawa Y, Ito H, *et al.* Identification of species and capsular types of *Klebsiella* clinical isolates, with special reference to *Klebsiella planticola*. Microbiol Immunol. 1989; 33(11):887-895.
- 180) Podschun R, Ullmann U. Isolation of *Klebsiella terrigena* from clinical specimens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1992; 11(4): 349-352.
- 181) Podschun R, Ullmann U. Incidence of *Klebsiella planticola* among clinical *Klebsiella*. Med Microbiol Lett. 1994; 3:90-95.
- 182) Qureshi Sh. *Klebsiella* infections [Internet]. USA: Medscape. c2015 – [cited 2015 Jun 16]. Available from:<http://emedicine.medscape.com/article/219907-overview#a7>.
- 183) Montgomerie JG, Ota JK. *Klebsiella* bacteremia. Arch Intern Med. 1980; 140:525-527.
- 184) Weinstein MP, Murphy JR, Reller LB, Lichtenstein KA. Blood Cultures: A Comprehensive Analysis of 500 Episodes of Bacteremia and Fungemia in Adults. II Clinical Observations with Special Reference to Factors Influencing Prognosis. Rev Infect Dis. 1983; 5(1):54-70.

- 185) Berger SA, Tollock AA, Richmond AS. Isolation of *Klebsiella ozaenae* and *Klebsiella rhinoscleromatis* in a General Hospital. *Am J Clin Pathol.* 1977; 67(5):499-502.
- 186) Goldstein EJC, Lewis RP, Martin WJ, Edelstein PH. Infections caused by *Klebsiella ozaenae*: a Changing Disease Spectrum. *J Clin Microbiol.* 1978; 8(3):413-418.
- 187) Power JT, Calder MA. Pathogenic Significance of *Klebsiella oxytoca* in Acute Respiratory Tract Infection. *Thorax.* 1983; 38(3):205-208.
- 188) Lewis JF, Alexander JJ. Meningitis and Septicemia due to *Klebsiella ozaenae*. *Am J Clin Pathol.* 1979; 72(6):1033-1034.
- 189) Murray KA, Clements BH, Keas SE. *Klebsiella ozaenae* septicemia associated with Hansen's disease. *J Clin Microbiol.* 1981; 14(6):703-705.
- 190) Smith MJ, Hart CA, Cooke KWI. Gentamicin-Resistant *Klebsiella oxytoca* on a Special Care Baby Unit. *Lancet* 1984; 2(8402):586-587.
- 191) García de la Torre M, Romero-Vivas J, Martínez-Beltrán J, Guerrero A, Meseguer M, Bouza E. *Klebsiella* Bacteremia: An Analysis of 100 Episodes. *Rev Infect Dis.* 1985; 7(2):143-150.
- 192) Simoons-Smit AM, Verweij-van AM, MacLaren DM. The role of K antigens as virulence factors in *Klebsiella*. *J Med Microbiol.* 1986; 21(2):133-137.
- 193) Williams P, Lambert P, Brown MR, Jones RJ. The role of the O and K antigens in determining the resistance of *Klebsiella aerogenes* to serum killing and phagocytosis. *J Gen Microbiol.* 1983; 129(7):2181-2191.
- 194) Williams P, Tomas J. The pathogenicity of *Klebsiella pneumoniae*. *Rev Med Microbiol.* 1990; 1(4):196-204.
- 195) Simoons-Smit AM, Verweij-van AM, Kanis IY, MacLaren DM. Virulence of *Klebsiella* strains in experimentally induced skin lesions in the mouse. *J Med Microbiol.* 1984; 17(1):67-77.
- 196) Old DC, Tavendale A, Senior BW. A comparative study of the type-3 fimbriae of *Klebsiella* species. *J Med Microbiol.* 1985; 20(2):203-214.
- 197) Przondo-Hessek A, Pulverer G. Hemagglutinins of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca*. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A.* 1983; 255(4):472-478.

- 198) Iwami T, Abe T, Nakao M, Imada A, Tsuchiya K. Role of type 1 fimbriae in the pathogenesis of ascending urinary tract infection induced by *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1983; 39(3):1307-1315.
- 199) Virkola R, Westerlund B, Holthöfer H, Parkkinen J, Kekomäki M, Korhonen TK. Binding characteristics of *Escherichia coli* adhesins in human urinary bladder. *Infect Immun*. 1988; 56(10):2615-2622.
- 200) Ayars GH, Altman LC, Fretwell MD. Effect of decreased salivation and pH on the adherence of *Klebsiella* species to human buccal epithelial cells. *Infect Immun*. 1982; 38(1):179-182.
- 201) Hornick DB, Allen BL, Horn MA, Clegg S. Adherence to respiratory epithelia by recombinant *Escherichia coli* expressing *Klebsiella pneumoniae* type 3 fimbrial gene products. *Infect Immun*. 1992; 60(4):1577-1588.
- 202) Tarkkanen AM, Virkola R, Clegg S, Korhonen TK. Binding of the type 3 fimbriae of *Klebsiella pneumoniae* to human endothelial and urinary bladder cells. *Infect Immun*. 1997; 65(4):1546-1549.
- 203) Merino S, Camprubí S, Alberty S, Benedí VJ, Tomás JM. Mechanisms of *Klebsiella pneumoniae* resistance to complement-mediated killing. *Infect Immun*. 1992; 60(6): 2529-2535.
- 204) Morales S. Guía de Practica de Microbiología Veterinaria. Universidad Científica del Sur. 2013.
- 205) Organización Mundial de Sanidad Animal [Internet]. Lima (Perú): Manual de la OIE sobre animales terrestres, Pruebas de diagnóstico y Vacunas para animales terrestres. c2013 – [cited 2015 Jun 16]. Disponible en: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/>.
- 206) Instituto Nacional de Salud [Internet]. Lima (Perú): Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias, Identificación Bacteriana. c2005 – [cited 2015 Jun 16]. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/Manual_%20Procedimientos_%20Bacteriologicos_%20IIIH.pdf.
- 207) Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Principles and Practice of Infectious Diseases. 8th ed. Washington D.C: Elsevier; 2015.

- 208) Branton LL, Lazo JS, Parker RL. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11th ed. New York: McGraw-Hill/Medical; 1996.
- 209) Prats G. Microbiología Clínica. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2005.
- 210) Navarro F, Miró E, Mirelis B. Interpretative reading of the antibiogram of enterobacteria. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002; 20(5):225-234.
- 211) Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: A Clinical Update. *Clin Microbiol Rev*. 2005; 18(4):657-686.
- 212) Datta N, Kontomichalou P. Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in *Enterobacteriaceae*. *Nature*. 1965; 208(5007):239-241.
- 213) Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*. 1983; 11(6):315-317.
- 214) Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorff-Neutzling RM, Wiedemann B. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother*. 1985; 28(2):302-307.
- 215) Livermore DM, Yuan M. Antibiotic resistance and production of extended-spectrum beta-lactamases amongst *Klebsiella* spp. from intensive care units in Europe. *J Antimicrob Chemother*. 1996; 38(3):409-424.
- 216) Drlica K, Zhao X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1997; 61(3):377-392.
- 217) Nordmann P, Poirel L. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother*. 2005; 56(3):463-469.
- 218) Kim HB, Park CH, Kim CJ, Kim EC, Jacoby GA, Hooper DC. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants over a 9-years period. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Feb 53; 639-645. doi: 10.1128/AAC.01051-08. PubMed Central PMCID: PMC2630623.
- 219) Goñi MP, Agudo MC, Gómez-Lus R. Antibiotics Aminoglicosids. In: Ruiz J, editor. *Antimicrobians*. España: Treballs de la Societat Catalana de Microbiologia; 2004. p. 107-119.

- 220) Reynier H. Diseases of chelonians. (2) Necropsy survey of terrapin and turtles. *Vet Rec.* 1978; 103(26-27):577-582.
- 221) Glazebrook JS, Campbell RSF, Thomas AT. Studies on an ulcerative stomatitis-obstructive rhinitis-pneumonia disease complex in hatchling and juvenile sea turtles, *Chelonia mydas* and *Caretta caretta*. *Dis Aquat Org.* 1993; 16(2):133-147.
- 222) Medway W. Some bacterial and mycotic diseases of marine mammals. *J Am Vet Med Assoc.* 1980; 177(9):831-834.
- 223) Ghittino F, Schwedler H, De Kinkelin P. The principal infectious diseases of fish and their general control measures. In: De Kinkelin, editor. *Symposium on fish vaccination.* Paris: Publication Office International des Epizootics; 1984. p. 5-38.
- 224) Gulland F. Leptospirosis in marine mammals. In: Fowler ME, Miller RE, editors. *Zoo and Wild Animal Medicine.* Philadelphia: Saunders; 1999. p. 469-471.
- 225) Santoro M, Orrego CM, Hernández G. Flora bacteriana cloacal y nasal de *Lepidochelis olivácea* (Testudines: Cheloniidae) en el Pacífico Norte de Costa Rica. *Rev Biol Trop.* 2006; 54(1):43-48.
- 226) Drews C. Simpatía y empatía hacia la fauna: raíces de la tenencia de mascotas silvestres. En: Drews C, editor. *Rescate de fauna en el neotrópico.* Heredia, Costa Rica: Universidad Nacional EUNA; 1999. p. 31-52.
- 227) Perkins SE, Cattadori I, Hudson PJ. The role of mammals in emerging zoonoses. *Mammal Study.* 2005; 30(Suppl 1):S67-71.
- 228) Kuiken T, Leighton FA, Fouchier RA, LeDuc JW, Peiris JS, Schudel A, *et al.* Public health: Pathogen surveillance in animals. *Science.* 2005; 309(5741):1680-1681.
- 229) Chomel BB, Belotto A, Meslin FX. Wildlife, exotic pets, and emerging zoonoses. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13(1):6-11.
- 230) Monsalve S, Mattar S, Gonzales M. Zoonosis transmitidas por animals silvestres y su impacto en las enfermedades emergentes y reemergentes. *Rev MVZ Córdoba.* 2009; 14(2):1762-1773.
- 231) Rylands AB, Valladares-Pádua C, Da Rocha e Silva R, Boere V, Catáo-Dias JL, Passinatti A, de Barros Vaz Guimarães MA. Order Primates. In: Fowler ME, Cubas ZS, edi-

- ors. Biology, medicine, and surgery of South American wild animals. USA. Iowa University Press; 2001. p. 256-278.
- 232) Bruno SF, Liebhold MM, Mätz-Rensing K, Romao MA, Didier A, Brandes F, *et al.* Herpesvirus infections in free living black tufted ear marmosets (*Callithrix penicillata* E. Geoffroyi 1812) at the State Park of Serra da Tiririca, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 1997; 110(11-12):427-430.
- 233) Huemer HP, Larcher C, Czedik-Eysenberg T, Nowotny N, Reifinger M. Fatal infection of a pet monkey with *Human herpesvirus 1*. *Emerg Infect Dis.* 2002 Jun 8; 639-641. doi: 10.3201/eid0806.010341. PubMed Central PMCID: PMC2738492.
- 234) Longa CS, Bruno SF, Pires AR, Romijn PC, Kimura LS, Costa CHC. Human Herpesvirus 1 in Wild Marmosets, Brazil, 2008. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(7):1308-1309.
- 235) Casado C, Torrico G, Medina M. Medios de Cultivo en un Laboratorio de Microbiología. 2012; 2 (1): 2-25.
- 236) MacFaddin JF. *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria.* 3rd ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.
- 237) Koneman, EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *The Enterobacteriaceae.* In: Baltimore LWW, editor. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* Philadelphia: JB Lippincott Co; 1997. p.171-230.
- 238) Farmer JJ. *Enterobacteriaceae: Introduction and identification.* En: Murray P, Baron E, Jorgensen M, Yollun R, editors. *Manual of Clinical Microbiology.* Washington D.C: ASM Press; 2003.p. 93-113.
- 239) [MINSAL] Departamento de Epidemiología del Ministerio de Salud Chile. Informe de vigilancia de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC). Artículo 9°, DS N° 158/04. Chile. 2012
- 240) Reyes M; Duran C; Prado V. Perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos en cepas de *E coli* productoras de Shiga toxina (STEC) aisladas de infecciones humanas y de alimentos. *Rev. Médica de Chile.* 2004; 132 (10): 1211-1216
- 241) Taroco R, Seija V, Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Bacteriología y Virología Médica [Internet].* c2008 – [cited 2015 Jun 16]: Available from: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>

- 242) Saenzquispe R.L, Velasquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima- Perú. Instituto Nacional de Salud. 2002. Serie de Normas Técnicas N°30.
- 243) Carloni G, Pereyra A, Denamiel G, Gentilini E. Resistencia a antimicrobianos en aislamiento de *Escherichia coli* de origen animal. *InVet*. 2011; 13(2): 47-51.
- 244) Morales G, Bermúdez C, Bracho R. Perfil fenotípico de susceptibilidad en cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos del Hospital Rosario Pumarejo de López en la ciudad de Valledupar. *Revista Médica Colombia*. 2011.
- 245) Malbrán C. Manual de Procedimientos para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas de humanos. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. 2001: 3-32.
- 246) Corna E. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. *Revista Chilena de infectología*. 2002; 19(2): 77-81.
- 247) Prats G, Llobet T, Margall N. *Escherichia Coli* O157H7 Enterohemorrágica. Servicio de Microbiología Hospital de Sant Pau. Universidad Autónoma de Barcelona [Revista en la Internet]. 2009: Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2001/08/23/369.php>.
- 248) Jacobson ER, Origgi F, Pessier AP, Lamirande EW, Walker I, Whitaker B, *et al*. Paramyxovirus infection in caiman lizards (*Dracaena guianensis*). *J Vet Diagn Invest*. 2001; 13(2): 143-151.
- 249) Martínez LS, Botero L. Estudio retrospectivo de la casuística de reptiles en el laboratorio de patología veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia entre los años 1971 y 2008. *Mem Conf Interna Med Aprovech Fauna Silv Exót Conv*. 2011; 7(2): 11-44.
- 250) Glazebrook JS, Campbell RSF. A survey of the diseases of marine turtles in northern Australia. II. Oceanarium-reared and wild turtles. *Dis Aquat Organ*. 1990; 9(83): 97-104.
- 251) Pasmans F, Blahak S, Martel A, Pantchev N. Introducing reptiles into a captive collection: The role of the veterinarian. *Vet J*. 2008; 175(1): 53-68.
- 252) Rosenthal KL, Mader DR. Microbiology: fungal and bacterial diseases of reptiles-bacterial diseases. In: Mader DR, editor. *Reptile medicine and surgery*. St. Louis: Elsevier; 2006.p. 227-238.

- 253) Solórzano JE. Uso clínico de las hidroquinonas en animales exóticos y mamíferos pequeños. *Bayvet*. 2002; 6(2): 15-23.
- 254) Sunderland R, Veal J. An investigation into the faecal flora of clinically healthy tortoises. *Testudo (Journal of British Chelonia Group)*. 2001; 5: 23-34.
- 255) Santoro M, Orrego CM, Hernández G. Flora bacteriana cloacal y nasal de *Lepidochelis olivácea* (Testudines: Cheloniidae) en el pacífico norte de Costa Rica. *Rev Biol Trop*. 2005; 54(1): 43-48.
- 256) Muro J. Utilización de una pasta oral en el tratamiento de la septicemia cutánea ulcerativa. *Clin Vet Peq Animal*. 1998; 18(1): 13-16.
- 257) Gianmarco Rojas. Manejo sanitario y medicina de reptiles en cautivero. [diapositiva]. Lima: Universidad Científica del Sur; 2013. 91 diapositivas.
- 258) Aguillón DR, Lazcano D, Ramírez R, Aguirre A, Zárate JJ, Wong A. Bacterias cloacales y evaluación física de la herpetofauna del Parque Ecológico Chipinque. *Ciencia UANL*. 2007; 10(2): 168-174.
- 259) Marçal H, Larangeira LF, Gattamorta MA, Reiko E. Prevalence of enterobacteria in *Bothrops jararacá* in São Paulo State: microbiological survey and antimicrobial resistance standards. *Acta Sci Biol Sci*. 2008; 30(3): 321-326.
- 260) Pachón DA, Pulido AP, Moreno CA. Aislamiento e identificación de microorganismos entéricos en muestras ambientales y cloacales en *Crocodylus intermedius* y Testudines de la Estación de Biología Tropical Roberto Franco en Villavicencio, Colombia. *Rev Med Vet Zoot*. 2010; 57(1): 23-34.
- 261) Barazorda S, Čížek A, Masaříková M, Knotek Z. Choanal and cloacal aerobic bacterial flora in captive Green iguanas: a comparative analysis. *Acta Vet Scand*. 2015; 84(1): 19-24.
- 262) Ajayi JO, Ogunleye AO, Happi AN, Okunlade AO. Bacteria isolated from the oral and cloaca swabs of lizards co-habiting with poultry in some poultry farms in Ibadan, Oyo State, Nigeria. *Afr J Biomed Res*. 2015; 18(3): 211-215.
- 263) Boyer TH. Bacterial culture and sensitivity. *Bulletin of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians*. 1992; 2: 6.
- 264) Diaz-Figueroa O, Mitchell MA. Gastrointestinal anatomy and physiology. In: Mader DR, editor. *Reptile medicine and surgery*. St. Louis: Elsevier; 2006.p. 145-162.
- 265) Draper CS, Walker RD, Lawler HE. Patterns of oral bacterial infection in captive snakes. *J Am Vet Med Assoc*. 1981; 179(11): 1223-1226.

- 266) Dickinson VM, Duck L, Schwabe CR, Jachow JL, Fluehmann MH. Nasal and cloaca bacteria in free-ranging desert tortoises from the western United States. *J Wildl Dis.* 2001; 37(2): 252-257.
- 267) Grupa A, Polyak CS, Bishop RD, Sobel J, Mintz ED. Laboratory-confirmed Shigellosis in the United States, 1989-2002: Epidemiologic Trends and Patterns. *Clin Infect Dis.* 2004; 38(10): 1372-1377.
- 268) Bowen A. *Shigella*. CDC. 2014; 122(6):1-2.
- 269) Galton MM, Mitchell RB, Clark G, Riessen AH. Enteric infections in chimpanzees and spider monkeys with a special reference to a sulfadiazine resistant *Shigella*. *J Infect Dis.* 1948; 83(2): 147-154.
- 270) Pinkerton ME. Shigellosis in the baboon (*Papio spp.*). *Lab Anim Care.* 1968; 18(1): 11-21.
- 271) Mannheimer HS, Rubin LD. An epizootic of shigellosis in a monkey colony. *J Am Vet Med Assoc.* 1969; 155(7): 1181-1185.
- 272) Mulder JB. Shigellosis in nonhuman primates. *Lab Anim Care.* 1971; 21: 734-73.
- 273) Cooper JE, Needham JR. An outbreak of shigellosis in laboratory marmosets and tamarins. *J Hyg.* 1976; 76(3): 415-424.
- 274) McClure HM, Chang J. *Chromobacterium violaceum* infection in a nonhuman primate (*Macaca assamensis*). *Lab Anim Sci.* 1976; 26(5): 807-810.
- 275) L'Hole JL. Contribution à l'étude des salmonellosis et des shigelloses des primates zoonoses. [Tesis doctoral]. Francia: École Nationale Vétérinaire de Lyon; 1980.
- 276) Good RC, May BD, Kawatomari T. Enteric pathogens in monkeys. *J Bacteriol.* 1969; 97(3): 1048-1055.
- 277) Banish LD, Sims R, Bush M, Sack D, Montali RJ. Clearance of *Shigella flexneri* carriers in a zoologic collection of primates. *J Am Vet Med Assoc.* 1993; 203(1): 133-136.
- 278) Mahmoud IY, Al-Zadjali M, Al-Bahry SN, Elshafie A, AlKindi AY, Al-Alawi, *et al.* Multiple antibiotic resistant gramnegative bacteria from the oviductal fluid of the green turtles (*Chelonia mydas*) during egg laying. NOAA Tech Mem NMFS SEFSC. 2008; 569: 22.
- 279) Benavides de Morais P, Rodrigues de Souza d, Pinheiro de Souza M, Wessel de Oliveira K, Sanzio R. *Enterobacteriaceae* in mouth and cloaca of *Podocnemis expansa* y *P. unifilis* (Testudines: Chelonia) populations of National Park of Araguaia Plains, Brazil. *Braz J Microbiol.* 2011; 42(2): 526-530.

- 280) Boyer TH. Microbiología Clínica de Reptiles. En: Donagura JD, editor. Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales. España: McGraw-Hill; 1995.p. 93-113.
- 281) Mathewson JJ. *Enterobacteriaceae* isolated from iguanid lizards of west-central Texas. *Appl Environ Microbiol.* 1979; 38(3): 402-405.
- 282) Silva JSA, Mota RA, Pinheiro Júnior JW, Almeida MCS, Silva DR, Ferreira DRA, *et al.* Aerobic bacterial microflora of broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*) oral cavity and cloaca, originating from Parque Zoológico Arruda Câmara, Paraíba, Brazil. *Braz J Microbiol.* 2009; 40(1): 194-198.
- 283) Ahmed AM, Motoi Y, Sato M, Maruyama A, Watanabe H, Fukumoto Y, *et al.* Zoo animals as reservoirs of gram-negative bacteria harboring integrons and antimicrobial resistance genes. *Appl Environ Microbiol.* 2007; 73(20): 6686-6690.
- 284) Meza Ruiz, D. Identificación, serotipificación y determinación de perfil de sensibilidad de *Salmonella spp.* aisladas de cloacas de Tortugas de orejas rojas (*Trachemys sp.*) en cautiverio. [Tesis doctoral]. Lima: Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas, Universidad Científica del Sur; 2015.
- 285) Campos Nieves, A. Estudio en *Salmonella spp.* en Tortugas Taricaya (*Podocnemis unifilis*) como factor de riesgo para la salud pública. [Tesis doctoral]. Lima: Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas, Universidad Científica del Sur; 2013.
- 286) Carvalho VM, Colibacilose e salmonelose. In: Cubas ZS, Silva JC, *et al.*, editors. Tratado des animais selvagens: medicina veterinária. São Paulo: Roca; 2006.p.742-750.
- 287) Orós J, Rodríguez JR, Pether J, Rivero M, Fernández A. Gastritis causada por *Salmonella arizonae* en cinco serpientes sin afectación intestinal. *Revista Española de Herpetología.* 1997; 11(2): 25-30.
- 288) Jacobson ER, Cheatwood JL. Mycotic diseases of reptiles. *Semin Avian Exot Pet.* 2000; 9(2): 94-101.
- 289) Molina R, Grifols J, Martínez-Silvestre A, Padrós F. *Memorix: Medicina de Animales Exóticos.* 4ta ed. Barcelona: Grass; 2002.
- 290) Mitchell MA, Shane S. Preliminary findings of *Salmonella spp.* in captive green iguanas, *Iguana iguana*, and their environment. *Prev Vet Med.* 2000; 45(3-4): 297-304.
- 291) Manolis SC, Webb GJ, Pinch D, Melville L, Hollis G. *Salmonella* in captive crocodiles (*Crocodylus johnstoni* and *Crocodylus porosus*). *Aus Vet J.* 1991; 68(3): 102-105.
- 292) Obwolo MJ, Zwart P. Prevalence of *Salmonella* in the intestinal tracts of farmreared crocodiles (*Crocodylus niloticus*) in Zimbabwe. *J Zoo and Wildl Med.* 1993; 24: 175-176.

- 293) Pasmans F, De Herdt P, Chasseau-Libout ML, Barahona P, Haesebrouck F. Occurrence of *Salmonella* in tortoises in a rescue centre in Italy. *Vet Rec.* 2000; 146(9): 256-258.
- 294) Pasmans F, De Herdt P, Dewulf J, Haesebrouck F. Pathogenesis of infection with *Salmonella enteric subsp. Enterica* serovar Muenchen in the turtle *Trachemys scripta scripta*. *Vet Microbiol.* 2002; 87(4): 315-325.
- 295) Saelinger CA, Lewbart GA, Christian LS, Lemons CL. Prevalence of *Salmonella spp.* in cloacal, fecal, and gastrointestinal mucosal samples from wild North American turtles. *J Am Vet Med Assoc.* 2006; 229(2): 266-268.
- 296) Hidalgo J, Díaz C, De Frutos C, Jiménez C, Pérez N. *Salmonella* in free living terrestrial and aquatic turtles. *Vet Microbiol.* 2007; 119(2-4): 311-315.
- 297) Hidalgo J, Díaz C, De Frutos C, Herrero A, Pérez N. *Salmonella* in free living exotic and native turtles and in pet exotic turtles from SW Spain. *Res Vet Sci.* 2008; 85(3): 449-452.
- 298) Chiodini RJ, Sundberg JP. Salmonellosis in reptiles: a review. *Am J Epidemiol.* 1981; 113(5): 494-499.
- 299) Bradley T, Angulo F, Mitchell M. Public health education on *Salmonella spp.* and reptiles. *J Am Vet Med Assoc.* 2001; 219(6): 754-755.
- 300) Ebani VV, Cerri D, Fratini F, Meille N, Valentini P, Andreani F. *Salmonella enterica* isolation from faeces of domestic reptiles and a study of their antimicrobial in vitro sensitivity. *Res Vet Sci.* 2005; 78(2): 117-121.
- 301) Onderka DK, Finlayson MC. *Salmonellae* and salmonellosis in captive reptiles. *Can J Comp Med.* 1985; 49(3): 268-270.
- 302) Frye FL. Infectious diseases. Fungal actinomycete, bacterial, rickettsial and viral diseases (101-160). In: Frye FL, editor. *Biomedical and Surgical Aspects of Captive Reptile husbandry*. Melbourne: Krieger; 1991. p. 709-712.
- 303) Mader DR. *Reptile Medicine and Surgery*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier; 1996.
- 304) Ardila MC, Barahona P, Bonilla C, Cárdenas R. Aportes al conocimiento de la reproducción, embriología y manejo de *Crocodylus intermedius* en la Estación de Biología Tropical Roberto Franco de Villavicencio. *Rev Acad Col Cien.* 1999; 23: 417-424.
- 305) Altman R, Gorman JC, Bernhardt LL. Turtle-associated salmonellosis. II. The relationship of pet turtles to salmonellosis in children in New Jersey. *Am J Epidemiol.* 1972; 95(6): 518-520.

- 306) Sanyal D, Douglas T, Roberts R. *Salmonella* infection acquired from reptilian pets. Arch Dis Child. 1997; 77(4): 345-346.
- 307) Ballesteros Tercero C. Estudio y caracterización de aislados de *Enterococcus spp.* obtenidos de aves silvestres. [Tesis doctoral]. Madrid: Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria, Universidad Complutense; 2003.
- 308) Martínez A, Silveira L, Mateo JA, Urioste J, Rodríguez MA, Pether J. Microbiología cloacal en lagartos gigantes amenazados de las Islas Canarias (género *Gallota*) en Cautividad. Rev Esp Herp. 2003; 17: 29-37.
- 309) Johnson-Delaney CA. Reptile zoonoses and threats to public health. In: Mader DR, editor. Reptile Medicine and Surgery. Philadelphia: Elsevier; 1996.p.20-33.
- 310) Mitchell J, Mc Avoy B. Enteric bacteria in natural populations of freshwater turtles in Virginia. Virg J Sci. 1990; 41(3): 233-244.
- 311) Johnson JH, Benson PA. Laboratory reference values for a group of captive ball pythons (*Python regius*). Am J Vet Res. 1996; 57(9): 1304-1307.
- 312) Lauckner G. Diseases of Reptilia. In: Kinne O, editor. Diseases of marine animals. II. Biologische Anstalt Helgoland. Hamburg: Biologische Anstalt Helgoland; 1985.p.561-566.
- 313) Jacobson ER. Infectious diseases of reptiles. 3rd ed. Florida: CRC Press; 1991.
- 314) Martínez A, Marco A, Mateu E. Septicemia por *Pseudomonas fluorescens* en una iguana común. ASMPA. 1994; 14(1): 27-30.
- 315) Ebaní 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; 78(2): 117-121.
- 316) Vargas J, Máttar S, Monsalve S. Bacterias patógenas con alta resistencia a antibióticos: estudio sobre reservorios bacterianos en animales cautivos en el zoológico de Barranquilla. Infect. 2010; 14(1): 6-19.
- 317) Prados AP, Waxman S. Terapéutica antimicrobiana en reptiles: Fluoroquinolonas. Rev Síntesis de Noticias Veterinarias. 2011; 44: 20-22.
- 318) Jacobson ER. Use of chemotherapeutics in reptile medicine. In: Jacobson ER, Kollias GV, editors. Exotic Animal. New York: Churchill Livingstone; 1980.p.35-47.
- 319) Jacobson ER. Use of antimicrobial drugs in reptiles. In: Fowler ME, Miller RE, editors. Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy. Philadelphia: Elsevier; 1999.p. 190-200.

- 320) Johnson JT, Jensen JM, Drumbaugh GW, Booth DM. Aminoclin pharmacokinetics and the effects of ambient temperature on the dosage regimen in Ball Pythons (*Python regius*). J Zoo Wildl Med. 1997; 28(1): 80-88.
- 321) Kaufman GE. Pharmacology, pharmacodynamics and drug dosing. In: Ackerman L, editor. The Biology Husbandry and Health Care of Reptiles. New Jersey: TFH; 1998.p. 803-821.
- 322) Rojas-Santos, L. Apuntes sobre el abordamiento terapéutico antimicrobiano en reptiles. Med Conf Interna Med Aprovech Fauna Silv Exót Conv. 2012; 8(2): 5-9
- 323) Gentilini E. Antimicrobianos. En: Stanchi O, editor. Microbiología Veterinaria. Buenos Aires: Intermédica; 2007.p. 47-51.
- 324) Mitchell MA. Therapeutics. In: Mader DR, editor. Reptile medicine and surgery. St. Louis: Elsevier; 2006.p. 631-664.
- 325) López C, Sierra M, García JJ, Diez MJ, Sahagún A, Fernández N. Enrofloxacin: Pharmacokinetics and metabolism in domestic animal species. Curr Drug Metab. 2013; 14(10): 1042-1058.
- 326) Wargo KA, Edwards JD. Aminoglycoside-induced nephrotoxicity. J Pharm Pract. 2014; 27(6): 573-577.
- 327) Miko A, Pries K, Schroeter A, Helmuth R. Molecular mechanisms of resistance in multidrug-resistant serovars of *Salmonella enterica* isolated from foods in Germany. J Antimicrob Chemother. 2005; 56(6): 1025-1033.
- 328) López O, León J, Jiménez M, Chaidez C. Detection and antibiotic resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella* in water and agricultural soil. Rev Fitotec Mex. 2009; 32(2): 119-126.
- 329) Andriole VT. The quinolones: Past, Present, and Future. 1998; 41 Suppl 2: S115
- 330) Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Farmacología Básica y Clínica. 12th ed. Buenos Aires: McGraw-Hill; 2011.
- 331) Ruiz J, Goñi P, Marco F, Gallardo F, Mirelis B, Jiménez de Anta MT, *et al.* Increased resistance in *Campylobacter jejuni*. A genetic analysis of *gyrA* gene mutation in ciprofloxacin resistant clinical isolated. Microbiol Immunol. 1998; 42: 223-226.
- 332) Thomson CJ. The global epidemiology of resistance to ciprofloxacin and the changing nature of antibiotic resistance: a 10 year perspective. J Antimicrob Chemother. 1999; 43 Suppl A: S31-40.

- 333) Wang J, Hoa NT, Chinh NT, Vinh H, Everett MS, Diep TS, *et al.* Quinolone-resistant *Salmonella typhi* in Viet Nam: molecular basis of resistance and clinical response to treatment. *Clin Infect Dis.* 1997; 25(6): 1404-1410.
- 334) Hooper DC. Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7(2): 337-341.
- 335) Ruiz J, Marco F, Goñi P, Gallardo F, Mensa J, Trilla A, *et al.* High frequency of mutations at codón 83 of *gyrA* gene of quinolone-resistant clinical isolates of *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother.* 1995; 36: 737-738.
- 336) Everett MJ, Jin YF, Ricci V, Piddock LJ. Contribution of individual mechanisms to fluoroquinolone resistance in 36 *Escherichia coli* strains isolated from humans and animals. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; 40(10): 2380-2386.
- 337) Truong QC, Van JC, Shalae D, Gutmann L, Moreau NJ. A novel, double mutation in DNA gyrase A of *Escherichia coli* conferring resistance to quinolone antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997; 41(1): 85-90.
- 338) Vila J, Ruiz J, Sanchez F, Navarro F, Mirelis B, Jiménez de Anta MT, *et al.* Investigation of quinolone resistance development of an *Haemophilus influenzae* strains isolated from a patient with recurrent respiratory infections treated with ofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999; 43: 161-162.
- 339) Sanches CA, Gales AC, Tognim MC, Munerato P, Dalla LM. Quinolone-Resistant *Escherichia coli*. *Braz J Infect Dis.* 2008; 12(1): 5-9.
- 340) Lautenbach E, Metlay JP, Mao X, Han X, Fishman NO, Bilker WB, *et al.* *Clin Infect Dis.* 2010; 51(3): 280-285.
- 341) Wang H, Dzink-Fox JL, Chen M, Levy SB. Genetic characterization of highly fluoroquinolone-resistant clinical *Escherichia coli* strains from china: role of *acrR* mutations. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(5): 1515-1521.
- 342) Everett M, Jin YF, Ricci V, Piddock LJ. Contributions of individual mechanisms to fluoroquinolone resistance in 36 *Escherichia coli* strains isolated from humans and animals. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; 40(10): 2380-2386.
- 343) Hooper DC. Bacterial topoisomerases, anti-topoisomerases and anti-topoisomerase resistance. *Clin Infect Dis.* 1998; 27 Suppl 1: S54-63.
- 344) Center of Disease Control and Prevention. Reptile associated salmonellosis-selected States, 1996-1998. *J Am Med Assoc.* 1999; 48(44): 1009-1013.

345) Cornejo M, Madrid A, Friedman RG, Greco C, Desario C, Pagnabuc S, *et al.* Isolation of *Salmonella* strains from reptile faeces and comparison of different culture media. J Appl Microbiol. 2004; 96(4): 709-715.