

**Aislamiento de *Salmonella* spp. a partir de muestras de materia fecal de bovinos de dos hatos de la Sabana de Bogotá**

**Presentado por:**

**JULIANA CUERVO GUTIÉRREZ**

**Estudiante de Bacteriología**

**Directora:**

**RUBIELA CASTAÑEDA S.**

**M.V., MSc**

**Codirector:**

**OLIMPO OLIVER E.**

**M.V., MSc, DVSc**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

**BOGOTÁ D.C**

**2016**

**Aislamiento de *Salmonella* spp a partir de muestras de materia fecal de bovinos de dos hatos de la Sabana de Bogotá**

**Presentado por:**

**JULIANA CUERVO GUTIÉRREZ**

**Estudiante de Bacteriología**

**Directora:**

**RUBIELA CASTAÑEDA S.**

**M.V., MSc**

**Codirector:**

**OLIMPO OLIVER E.**

**M.V., MSc, DVSc**

**TRABAJO DE GRADO  
Presentado como requisito parcial  
para optar al título de Bacterióloga**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

**BOGOTÁ D.C**

**2016**

## **NOTA DE ADVERTENCIA**

*"La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por qué las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia".*

Artículo 23 de la Resolución No13 de julio de 1946.

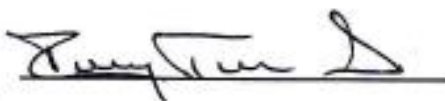
**Aislamiento de *Salmonella* spp a partir de muestras de materia fecal de bovinos de dos hatos de la Sabana de Bogotá**

**Presentado por:**

**JULIANA CUERVO GUTIÉRREZ**

**Estudiante de Bacteriología**

**APROBADO**



**RUBIELA CASTAÑEDA S.**

**M.V., MSc**

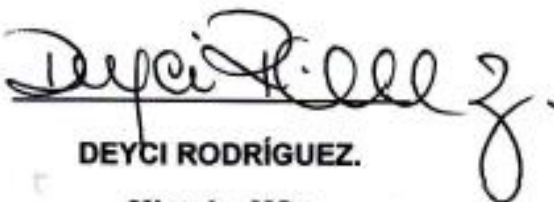
**Directora**



**OLIMPO OLIVER E.**

**M.V., MSc, DVSc**

**Codirector**



**DEYSI RODRÍGUEZ.**

**Microb., MSc**

**Jurado**

**Aislamiento de *Salmonella* spp a partir de muestras de materia fecal de bovinos de dos hatos de la Sabana de Bogotá**

**Presentado por:**

**JULIANA CUERVO GUTIÉRREZ**

**Estudiante de Bacteriología**

**APROBADO**

---

**Concepción Judith Puerta Ph D**

**Decana académica de la Facultad**

---

**Diana Cristina Patiño MSc.**

**Directora de carrera**

## **AGRADECIMIENTOS**

De ante mano quiero dar gracias a Dios por permitirme estar cada vez más cerca del objetivo final que es obtener el título de Bacterióloga por el cual he luchado a través de estos años y he aprendido a vencer los obstáculos presentes en este arduo camino; culminar este paso es de gran orgullo personal ya que fue una de las principales metas cuando empecé esta carrera. Por tal motivo quiero dar gracias a la persona que me permitió hacer parte de este proyecto y aquella que me brindó un voto de confianza para realizar esta tesis, ella es la profesora Rubiela Castañeda Salazar quien me acompañó durante todo un año en la realización de este proceso y aquella que me brindó sus conocimientos para realizar un buen trabajo en conjunto.

Adicionalmente agradezco a mis padres en especial a mi madre por todo su apoyo en este camino, ella fue mi hombro y mi soporte quien me enseñó a no desistir en los momentos más difíciles y quien confió en mis capacidades para lograr un buen trabajo de grado.

Finalmente agradezco a mis compañeras por estar siempre conmigo y darme el apoyo de que si se podía lograr, en especial a una compañera Erika Ramírez quien fue mi constante en todo el proceso y siempre estuvo dispuesta a colaborarme cuando lo necesité.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>1. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	3
<b>2. MARCO TEÓRICO</b>	
2.1 Generalidades de <i>Salmonella</i> spp.	5
2.2 Salmonelosis en bovinos	7
2.2.1 Epidemiología	7
2.2.2 Patogénesis	8
2.2.3 Transmisión	9
2.2.4 Signos clínicos	9
2.2.5 Diagnóstico	10
2.2.6 Tratamiento	12
2.3 Antecedentes	13
2.4 Implicaciones en salud pública	14
<b>3. OBJETIVOS</b>	
3.1 Objetivo general	15
3.2 Objetivos específicos	15
<b>4. METODOLOGÍA</b>	
4.1 Tipo de estudio	15
4.2 Población de estudio	16
4.3 Muestreo	16
4.4 Procesamiento de muestras	16
<b>5. RESULTADOS</b>	
5.1 Características de los hatos evaluados	17

5.5.1 Hato 1	17
5.5.2 Hato 2	18
5.2 Bovinos evaluados	18
5.3 Identificación de <i>Salmonella</i> spp.	18
5.4 Otros microorganismos identificados	21
5.4.1 Microorganismos identificados en el hato 1	21
5.4.2 Microorganismos identificados en el hato 2	21
<b>6. DISCUSIÓN</b>	<b>23</b>
<b>7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>27</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>28</b>
<b>9. ANEXOS</b>	<b>37</b>

#### ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Características bioquímicas diferenciales para <i>Salmonella</i> spp.	5
<b>Tabla 2.</b> Reportes de <i>Salmonella</i> spp. en bovinos a nivel mundial	13
<b>Tabla 3.</b> Número de muestras y razas de los bovinos	18

#### ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>Salmonella</i> spp. Medio Hecktoen	19
<b>Figura 2.</b> Pruebas bioquímicas para <i>Salmonella</i> spp.	19
<b>Figura 3.</b> Galería de pruebas bioquímicas RapID™ ONE para <i>Salmonella</i> spp.	20
<b>Figura 4.</b> Crecimiento de <i>Salmonella</i> spp. en agar Brilliance	20
<b>Figura 5.</b> Porcentaje de microorganismos aislados en las muestras de materia fecal del hato 1	21
<b>Figura 6.</b> Porcentaje de microorganismos aislados en las muestras de materia fecal del hato 2	22



<b>Figura 7.</b> Galería de pruebas bioquímicas RapID™ ONE para <i>Shigella</i>	22
---	----

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO N° 1.</b> Formato de recolección de muestras de materia fecal para análisis de <i>Salmonella</i> spp.	38
<b>ANEXO N° 2.</b> Identificación de microorganismos a partir de muestras de materia fecal de bovinos de los 2 hatos de la Sabana de Bogotá evaluados en el estudio	39

## RESUMEN

*Introducción:* La ganadería en Colombia es, a nivel histórico, la actividad más importante del sector agropecuario; según el Ministerio de Agricultura, la producción ganadera es mayor que la producción agrícola, con un porcentaje equivalente al 67% del valor de la producción pecuaria y el 30% del valor de la producción agropecuaria, por lo que la industria ganadera tiene relevancia en la economía nacional se deben establecer adecuadas medidas del manejo en los hatos ganaderos para garantizar la inocuidad de los productos, dado que *Salmonella* spp. es una de las principales causas de gastroenteritis bacteriana en humanos, bovinos y otras especies animales; además de su implicación en salud pública, la salmonelosis bovina es una enfermedad económicamente significativa para la ganadería debido a su impacto negativo en la salud y productividad ganadera.

*Objetivo:* Determinar la presencia de *Salmonella* spp. en muestras de materia fecal de bovinos en dos hatos lecheros de la Sabana de Bogotá.

*Materiales y Métodos:* *Salmonella* spp. fue aislada de muestras de materia fecal de bovinos sanos por métodos bacteriológicos convencionales y caracterización bioquímica.

*Resultados:* De un total de 80 muestras de materia fecal de bovinos sanos analizadas, se logró identificar *Salmonella* spp. en 21 muestras (26,3%) correspondientes al segundo hatos evaluado.

*Conclusiones:* La presencia del 26,3% de *Salmonella* spp. en las muestras de materia fecal de bovinos sanos de los hatos evaluados en la Sabana de Bogotá, constituye un hallazgo importante dada su implicación tanto en salud pública como en el estado sanitario de los animales, por lo que es importante establecer adecuadas medidas del manejo en los hatos ganaderos para garantizar tanto la inocuidad de los productos, como el adecuado desempeño productivo de los bovinos.

*Palabras clave:* *Salmonella* spp., materia fecal, bovino, cultivo bacteriológico, aislamiento.

## INTRODUCCIÓN

La ganadería en Colombia es la actividad, a nivel histórico, más importante del sector agropecuario; según el Ministerio de Agricultura, la producción ganadera es mayor que la producción agrícola, con un porcentaje equivalente al 67% del valor de la producción pecuaria y el 30% del valor de la producción agropecuaria (Cardozo et al, 2002). Esto indica que el sector pecuario, en particular la ganadería bovina, gana cada vez más espacio dentro del agro a nivel de producción, empleo y bienes disponibles como son la carne y leche (Cardozo et al, 2002).

En la actualidad la ganadería colombiana, representa cerca del 3,5% del PIB Nacional, un porcentaje significativo para una actividad individual y sobretodo rural. Dentro del sector agropecuario su importancia es irrefutable, con un 20% de participación dentro del PIB agropecuario y un 53% del PIB pecuario (DANE, 2015). Por otra parte, de acuerdo con cifras del DANE, el 60% de la población ganadera corresponde a la producción de carne (cría, levante y ceba), el 38% a la producción de carne y leche (doble propósito) y el restante 2% a la lechería especializada. (DANE, 2015). La ganadería colombiana se encuentra por encima de otros sectores como la producción cafetera, siendo la región Caribe la que posee mayor participación en la industria ganadera con un 39,44%, seguida de la región Andina que participa en un 30,29%, la Orinoquía en un 21,52% y finalmente las regiones con poca ganadería son las regiones de la Amazonía y Pacífica cuya participación es del 7,91% y 0,83% respectivamente (ICA, 2015).

A nivel mundial para el año 2015, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) anunció un aumento en la producción y consumo de carne bovina llegando a 318,7 millones de toneladas, siendo los mayores productores China, la Unión Europea, Estados Unidos y Brasil (FAO, 2015); un informe de esta organización estimó que el consumo per-cápita a nivel mundial correspondió a 43,1Kg/habitante, sin embargo para Colombia, según la Federación Colombiana de Ganaderos entre los años 2014 y 2015 el consumo de carne bovina fue de 19,3kg/habitante (FEDEGAN, 2015).

Teniendo en cuenta la importancia de la industria ganadera para la economía nacional, se deben establecer adecuadas medidas del manejo en los hatos ganaderos para garantizar la inocuidad de los productos, para tal propósito los planes sanitarios están dirigidos hacia

el control y prevención de enfermedades que repercuten en la salud del bovino y por ende en la producción y economía ganadera (ASOCEBÚ, 2015).

Dentro de las principales patologías que afectan comúnmente a los bovinos se encuentran las enfermedades respiratorias dentro de las que se destaca el complejo respiratorio bovino causado por *Manheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*, las afecciones respiratorias causada por virus, la principal patología es la rinotraqueítis bovina infecciosa (IBR) el cual es causada por el herpes virus (Doxey, 2005; Annas et al, 2015); la mastitis causada por *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis*, *Pseudomonas agalactiae* entre otros y las enfermedades gastrointestinales en las que los principales microorganismos implicados son *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Mycobacterium paratuberculosis* (Hasan et al, 2013; FEDEGAN, 2015; Anshu et al, 2015); sin embargo hay otro tipo de microorganismos patógenos implícitos en las afecciones del tracto digestivo como por ejemplo *Clostridium perfringens* tipo A que es el responsable de una enfermedad aguda hemolítica y enteritis hemorrágica en terneros y bovinos adultos (Doxey, 2005). Dentro de las patologías asociadas a los bovinos, también representan un grupo importante los parásitos que suelen afectar el abomaso, los principales parásitos hacen parte de la familia *Trichostrongylidae* como *Ostetagia* y *Haemonchus* (Doxey, 2005).

*Salmonella* spp. es una de las principales causas de gastroenteritis bacteriana en humanos, bovinos y otras especies animales (Mughini et al, 2015; Upadhyay et al, 2014); además de su implicación en salud pública, la salmonelosis bovina es una enfermedad económicamente significativa para la ganadería debido a su impacto negativo en la salud y productividad ganadera (Cummings et al, 2009).

## 1. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La salmonelosis bovina es una enfermedad zoonótica que puede transmitirse al humano mediante el contacto directo con animales infectados, por vía oral mediante el consumo de alimentos contaminados como leche y carne (Kahn, 2006; Costa et al, 2012), o mediante la manipulación de residuos animales contaminados donde los principales afectados son los trabajadores de las granjas (Vanselow et al, 2007).

*Salmonella* spp. es un patógeno que ocasiona importantes pérdidas económicas (Smith et al, 2004) en la industria ganadera debido al aumento en los índices de mortalidad, disminución de la ganancia de peso (Cummings et al, 2009; Delgado et al, 2016), disminución en la producción láctea y a los abortos (Cummings et al, 2010); también causa pérdidas económicas asociadas a los altos costos de los tratamientos (Cummings et al, 2009).

A nivel mundial se encuentran reportes de salmonelosis en bovinos, los cuales son susceptibles a infectarse por varios serotipos de *Salmonella*, principalmente *S. Dublin* y *S. Typhimurium* (Barrow et al, 2013, Dirksen et al, 2005; Costa et al, 2012), en los países bajos en granjas lecheras se aísla con mayor frecuencia el serotipo *S. Typhimurium* con un 47% y *S. Enteritidis* con una prevalencia entre el 29% y el 41% (Mughini et al, 2015, Kilonzo et al, 2013); *S. Dublin*, prevalece en el Reino Unido en el 52% de los hatos lecheros, en otros países de Europa como Dinamarca se aísla en un 47% a partir de muestras de materia fecal y en Estados Unidos en un 35% de los bovinos lecheros (Bolton et al, 2011; Baggesen et al, 2006).

En Latino América los reportes existentes son escasos, sin embargo estudios realizados en México indican que el serotipo que se aísla con mayor frecuencia a partir de bovinos aparentemente sanos sacrificados es *S. Newport* (Van, 2013), en Perú los serotipos más prevalentes son *S. Dublin* (42%), *S. Typhimurium* (40%) y *S. Newport* (25%) (Dirksen et al, 2005), en Brasil y Chile el serotipo más comúnmente aislado es *S. Typhimurium* con prevalencias de 34% y 57% respectivamente (Junod et al, 2013, Arnold et al, 2015). Sin embargo, teniendo en cuenta la amplia distribución de este microorganismo en los hatos ganaderos a nivel mundial, es posible que este sub-reporte encontrado en Latino América, esté asociado a la dificultad para el aislamiento de la *Salmonella* spp. a partir de materia fecal de bovinos debido posiblemente a una baja carga bacteriana y/o a la excreción

intermitente de la bacteria en las heces (Pardo y Oliver, 2012), por lo que se hace necesario hacer muestreos seriados para aumentar la posibilidad de detectar el microorganismo.

En Colombia, son pocos los reportes sobre salmonelosis en bovinos, solamente se encontró un estudio en el que se evaluó la presencia de *Salmonella* spp. como agente asociado a Diarrea Neonatal Indiferenciada Bovina (DNIB) en el que no fue posible aislar el microorganismo en terneros con diarrea (Pardo y Oliver, 2012).

Teniendo en cuenta que son escasos los estudios realizados en la Sabana de Bogotá en los que se evalúe la presencia de *Salmonella* spp. en muestras de materia fecal de bovinos lecheros, es necesario hacer una evaluación de estos animales para poder determinar la presencia del patógeno en los hatos, lo que permitirá el establecimiento de medidas tanto terapéuticas como preventivas y de control, lo que redundará en un mejor estado sanitario de los hatos y también permitirá disminuir el riesgo potencial que esta infección representa para la salud pública.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 GENERALIDADES DE *Salmonella* spp.

*Salmonella* es un bacilo Gramnegativo que hace parte de la familia Enterobacteriaceae, género *Salmonella* (Kemal, 2014), son oxidasa negativos, catalasa positivos, movilidad positiva por la presencia de flagelos, con excepción de *S. Gallinarum* y *S. Pollurum*, son aerobios y anaerobios facultativos, fermentan glucosa produciendo gas excepto *S. Typhi*; no utilizan la sacarosa ni la lactosa como fuente de energía y son capaces de usar el citrato como fuente de carbono con excepción de *S. Typhi* y *S. Paratyphi* (Stanchi et al, 2007; Winn et al, 2013).

Dentro de las pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de dicho microorganismo se encuentran oxidasa, TSI que se caracteriza por la fermentación de glucosa, se observa la producción de gas y de H<sub>2</sub>S, el medio SIM permite evaluar la motilidad que está dada por la presencia de flagelos, así como la producción de H<sub>2</sub>S, e indol por parte de los microorganismos, el citrato permite evaluar si la bacteria usa el citrato como fuente de carbono y la úrea para determinar si la bacteria posee la enzima ureasa (Tabla 1) (Winn et al, 2013).

**Tabla 1.** Características bioquímicas diferenciales para *Salmonella* spp.

Prueba Bioquímica	<i>Salmonella</i> spp.
TSI	K/A
H <sub>2</sub> S	+
CO <sub>2</sub>	+
Citrato	+/-
Urea	-
Motilidad	+
Indol	-
LIA	K/K
Catalasa	+
Oxidasa	-

(Tomado de: Winn et al, 2013)

En cuanto a las condiciones de crecimiento, esta bacteria, tolera temperaturas entre 7 y 49°C y un pH que varía entre 4 y 9 (Winn et al, 2013).

Desde el punto de vista epidemiológico, de acuerdo con la adaptación al hospedero, *Salmonella* spp. se ha clasificado en tres grupos diferentes: Grupo I se encuentran las salmonelas que afectan únicamente al ser humano como *S. Typhi* y *S. Paratyphi*, estas bacterias se transmiten de forma directa o indirecta del enfermo o portador al hospedero susceptible (Stanchi et al, 2007); el Grupo II constituido por las salmonelas que se han adaptado a un hospedero animal exclusivamente como por ejemplo *S. Dublin* (afecta a los bovinos), *S. Abortusovis* (ovinos), *S. Abortusequi* (equinos) y *S. Gallinarum* (causante de tifus aviar) (Stanchi et al, 2007). Finalmente en el Grupo III están las salmonelas que no tienen afinidad por ningún hospedero en particular y pueden infectar por igual tanto a los hombres como a los animales, a este grupo pertenecen la mayor parte de los serotipos causantes de salmonelosis como por ejemplo *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis* (Stanchi et al, 2007).

Hasta el momento se han identificado más de 2600 serotipos (Tadesse et al 2016), los cuales se determinan mediante los antígenos somático O, flagelar H y capsular Vi presentes en la bacteria:

- Somático (O) son lipopolisacáridos de la pared celular, son termoestables y su especificidad radica en el componente polisacárido de la endotoxina y el complejo proteína-lipolisacárido el cual se identifica por medio de pruebas de aglutinación en placa empleando distintos antisueros (Quinn et al, 2007).
- Flagelar (H) son proteínas termolábiles, compuestas por flagelina, las cuales generan un patrón característico de aglutinación; debido a estas proteínas las salmonelas pueden denominarse monofásicas cuando presentan el mismo antígeno flagelar o difásicas cuando presentan distintos antígenos flagelares (Quinn et al, 2007).
- Capsular (K) compuesto por polisacáridos, este antígeno confiere el principal factor de virulencia dado que al estar presente, se produce una resistencia contra la respuesta inmune celular y humoral del hospedero por lo que la bacteria logra evadir la respuesta por parte del sistema inmunológico (Quinn et al, 2007).

Este sistema de clasificación se conoce como Kauffman-White (Winn et al, 2013).



## **2.2 SALMONELOSIS EN BOVINOS**

Los bovinos son susceptibles a contraer enfermedades entéricas causadas por salmonellas no tifoideas (Stanchi et al, 2007). Dentro de los principales serotipos asociados con patología en los bovinos lecheros están *S. Dublin*, *S. Typhimurium* y *S. Newport* (Dirksen et al, 2005, Cummings et al, 2010, Snider et al, 2014). *S. Typhimurium* afecta con mayor frecuencia a terneros menores de dos meses de edad, causando enteritis con una diarrea severa (Younis et al, 2009, Carrique-Mas et al, 2010, Costa et al, 2012), la cantidad necesaria para causar infección en los bovinos es de  $10^6$  UFC (Rosenbaum, 2012); *S. Dublin* se asocia con infecciones sistémicas y con abortos en los bovinos adultos por lo general entre el quinto al octavo mes de preñez, mientras que en terneros se asocia con septicemia o shock endotóxico y, para causar la muerte, es necesario que se presente una alta carga bacteriana (Carrique-Mas et al, 2010, Costa et al, 2012, O'Leary, 2014).

Por otra parte, los bovinos infectados con *S. Newport* no necesariamente manifiestan signos clínicos, pero sirven como reservorios para transmitir la bacteria a otros animales ya que se excreta por materia fecal (Daly et al, 2008, Charles et al, 2011); dentro de los signos clínicos comúnmente asociados a la infección por *Salmonella* spp. se encuentran diarrea, fiebre, anorexia, deshidratación, disminución en la producción de leche, aborto y endotoxemia (Grinberg et al, 2005, Divers et al, 2008).

### **2.2.1 EPIDEMIOLOGÍA**

La prevalencia de la infección y la incidencia de la enfermedad varían según el área geográfica (Radostits et al, 2007). Dentro de los hospederos para *S. Typhimurium* además de los bovinos, se encuentran aves silvestres, roedores y seres humanos (Stanchi et al, 2007, Quinn et al, 2007), por el contrario *S. Dublin* es un serovar específico de los bovinos, en los que, ocasiona altas tasas de mortalidad, y por ende conlleva a importantes pérdidas económicas (Quinn et al, 2007, Nielsen, 2013), este serovar se aísla con frecuencia en países europeos en un 48%, siendo endémico en el ganado irlandés y danés (Barrow et al, 2013), además posee un alto potencial zoonótico (O'Leary, 2014); en Estados Unidos en un 35% y Reino Unido en un 23% (Younis et al, 2009, Wongsuntinpoj et al, 2014).

Por su parte, *S. Enteritidis* es una de las especies más prevalentes a nivel mundial, aislándose de bovinos en Estados Unidos con un 83%, España 35%, Burkina 56% y Japón 41%; seguida de *S. Typhimurium* la cual tienen una amplia distribución en bovinos en Estados Unidos con un 70%, España 22%, Burkina 52% y Japón 37%. (González et al,

2014, Kagambega et al, 2013, Kilonzo et al, 2013, Tamamura et al, 2010, Abdunaser et al, 2009).

En Egipto los serotipos que afectan con mayor frecuencia a bovinos lecheros son *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis* donde estos dos serovares son reportados en más del 90% de las granjas dando positivo para al menos una de las muestras evaluadas (Daly et al 2008, Youssef et al, 2012).

### **2.2.2 PATOGÉNESIS**

Una vez la *Salmonella* es ingerida por el hospedero susceptible (dosis infectiva para terneros:  $10^6$  UFC y para adultos  $10^{11}$  UFC), se produce resistencia al ambiente ácido del estómago dado que este microorganismo comienza a sintetizar proteínas de choque térmico; dichas proteínas son secretadas en ambientes que produzcan estrés bacteriano como la exposición a un pH ácido del estómago, posteriormente llega al intestino, se adhiere a las células diana que son aquellas que se encuentran presentes en la mucosa del yeyuno terminal (células M) y la mucosa del íleon, la adherencia de este microorganismo a dichas células depende de los flagelos y las fimbrias (SEF14, SEF17, y SEF 21), una vez se adhieren mediante la isla de patogenicidad tipo I, se insertan proteínas efectoras por medio del sistema de secreción tipo III en el citosol de las células diana que provoca cambios en el citoesqueleto de la célula (Santos et al, 2003) , luego la bacteria se propaga por vía linfática, invade los ganglios linfáticos y pasa a la sangre ocasionando bacteremia; posteriormente entra al macrófago, lo que le permite evadir al sistema mononuclear fagocítico, garantizando su supervivencia y replicación bacteriana dentro del macrófago (Figueroa et al, 2005, Nielsen, 2013).

Para producir la diarrea en los bovinos, *Salmonella* sobrevive al pH ácido del tracto gastrointestinal lo cual permite el paso del patógeno al duodeno, se produce una respuesta inflamatoria por parte de los neutrófilos que llegaron por medio de la secreción de IL-8 (Santos et al, 2003), lo que permite mayor liberación de prostaglandinas (PG-2) produciendo un aumento del AMPc al igual que la producción de enterotoxinas, que impiden la reabsorción de iones de sodio a través de la membrana de la célula epitelial intestinal y la excreción de bicarbonato de sodio y potasio a la luz intestinal por lo cual el agua pasa desde las células epiteliales a la luz intestinal provocando así deshidratación y un desequilibrio electrolítico (Woolhouse, 2006, Castillo et al, 2008, Fostein et al, 2009).

### **2.2.3 TRANSMISIÓN**

La transmisión de *Salmonella* dentro de una granja ocurre por distintas vías donde se incluye la introducción de ganado previamente infectado, agua o alimentos contaminados, animales salvajes como roedores y aves que posean la bacteria (Kemal, 2014); otra forma de transmisión en bovinos es por medio de la pastura contaminada con materia fecal de otros animales que estén eliminando activamente el microorganismo, adicionalmente, en hembras infectadas con el microorganismo, éste puede ser transmitido al ternero mediante el suministro de leche (Kagambega et al, 2013).

Adicionalmente, *S. Dublin* se puede transmitir desde la madre en gestación al feto dentro del útero ocasionando aborto, sin embargo dado que *Salmonella* spp. se excreta por otras vías como secreciones vaginales, en el momento del parto los terneros pueden adquirir la bacteria por contacto con secreciones infectivas (Nielsen, 2013).

### **2.2.4 SIGNOS CLÍNICOS**

El cuadro clínico general que presentan los bovinos adultos se acompaña de hipertermia, depresión, pérdida de apetito, neumonía, diarrea con presencia de moco y sangre, abortos, disminución en la producción de leche; la infección puede ser sistémica con bacteremia transitoria (Loeb et al, 2006, Younis et al, 2009), los terneros pueden presentar una infección subclínica que en ocasiones puede pasar desapercibida mientras que en otros puede ser severa con septicemia y muerte sin necesidad de que haya diarrea; adicionalmente la enfermedad puede manifestarse como un proceso neumónico, puede producir encefalitis, encefalomiелitis y artritis como consecuencia de la bacteremia generalizada (Loeb et al, 2006, Carrique-Mas et al, 2010).

En el caso de *S. Typhimurium*, ésta usualmente se asocia con enteritis que afecta a terneros jóvenes provocándoles diarrea, mientras que *S. Dublin* no necesariamente presenta esta manifestación clínica (Costa et al, 2012, Wongsuntoinpoj et al, 2014). Los bovinos adultos que se infectan con *S. Typhimurium*, generalmente presentan fiebre, pérdida de apetito y depresión; se producen heces acuosas y fétidas que en ocasiones pueden presentar moco y sangre (Janes, 2012). Esto no ocurre con animales infectados con *S. Dublin*, en los que se asocia principalmente con infecciones sistémicas que pueden o no causar abortos, los animales tienden a permanecer como portadores, excretando el

microorganismo por varios años; esta eliminación no solo ocurre en las heces si no también se excreta por orina y leche (Janes, 2012).

### 2.2.5 DIAGNÓSTICO

Dentro de las pruebas más comúnmente utilizadas para el diagnóstico se encuentra el cultivo microbiológico que permite determinar la presencia del microorganismo en las muestras evaluadas, éste se realiza en tres etapas (Pachón, 2009, Rosenbaum, 2012):

- Enriquecimiento no selectivo: Permite el crecimiento bacteriano cuando las muestras han estado expuestas a diversos factores que inhiben su proliferación como congelación, bajo pH e irradiaciones; dicho proceso se realiza en agua peptonada con el fin de recuperar *Salmonella* spp (Pachón, 2009, Rosenbaum, 2012).

- Enriquecimiento selectivo: Uno de los medios utilizados para este propósito es el caldo tetracionato, el cual permite que los microorganismos que poseen la enzima tetracionato reductasa proliferen en el medio y se inhiban las bacterias Gram positivas, en este medio la peptona proporciona los nutrientes necesarios para el desarrollo de las bacterias Gram negativas y el carbonato de sodio neutraliza los metabolitos tóxicos; la selectividad del medio está dada por las sales biliares y el tetracionato (Rosenbaum, 2012). El medio selenito inhibe la proliferación de bacterias Gram positivas, coliformes y otras bacterias intestinales, en éste, al igual que en el tetracionato la peptona aporta los nutrientes para el crecimiento bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable y el selenito de sodio inhibe el crecimiento bacteriano. Otro medio disponible es el Rappaport-Vassiliadis en el que el verde malaquita inhibe microorganismos distintos a *Salmonella* spp., el cloruro de magnesio eleva la presión osmótica y la triptona es la fuente de carbono y nitrógeno para el crecimiento (Rosenbaum, 2012, Kagambega et al, 2013).

- Siembra en medios selectivos y diferenciales: Favorecen el crecimiento de los microorganismos en estudio inhibiendo el resto de bacterias, se usan con el fin de evidenciar algunas características bioquímicas específicas para el microorganismo, entre estos medios se encuentra el agar McConkey, Hecktoen, XLD, XLT4, cromogénico ID (ChromID *Salmonella*) y Brilliance específico para *Salmonella* (Bosilevac et al, 2009, Pachón, 2009, Rosenbaum, 2012)

Posteriormente a las colonias compatibles morfológicamente con *Salmonella* spp. se les realizan las pruebas bioquímicas como SIM que evidencia movilidad, producción de H<sub>2</sub>S e indol (negativo para *Salmonella* spp.), TSI el cual demuestra producción de gas, H<sub>2</sub>S, y una reacción K/A (alcalino/ácido) que indica la fermentación de glucosa; úrea la cual no presenta cambio de color en el medio debido a que la bacteria no posee la enzima ureasa, citrato negativo para *Salmonella* Typhi o *Salmonella* Paratyphi o positivo para *Salmonella* Enterica, oxidasa negativa y catalasa positiva (Rosembaum, 2012; Winn et al, 2013).

Una prueba utilizada para identificar el serovar presente, es la serotipificación, que se fundamenta en evidenciar la presencia de los antígenos somáticos, capsulares y flagelares; se basa en una reacción antígeno-anticuerpo donde los antígenos pueden ser de origen protéico, carbohidratos o polipéptidos y los sueros inmunes que poseen los anticuerpos que reaccionan contra esos antígenos (Caffer et al, 2001).

Adicionalmente se pueden utilizar otras pruebas para determinar la presencia de *Salmonella* spp. como:

- ELISA: Se basa en el uso de un antígeno específico inmovilizado sobre pocillos de una placa de microtitulación, se agrega la muestra problema, si hay anticuerpos específicos éstos se unen a los antígenos anclados en los pozos formando el complejo Ag-Ac, las inmunoglobulinas no unidas por reacción con el antígeno son eliminadas en el proceso de lavado con Buffer (solución lavadora), se adicionan anti-IgG o anti-IgM conjugado el cual se une a los anticuerpos unidos al antígeno, produciendo una reacción colorimétrica mediada por la adición de sustrato que se evidencia por un cambio de color al cabo de 10 minutos de haber adicionado la solución de parada después de lo cual se lee la densidad óptica (DO) en el espectrofotómetro a 405 nm, una vez se obtengan las DO se debe comparar con los controles de la prueba con el fin de validar o no los resultados. Se han utilizado varios antígenos, incluyendo LPS, flagelos, fimbrias SEF 14, proteínas de la membrana externa y preparaciones de antígenos celulares totales (Warnick et al, 2006).

- Pruebas moleculares: Son técnicas genéticas implementadas en el laboratorio que se usan para extraer y ampliar fragmentos específicos de DNA (Cortes, 2009), estas técnicas son útiles para la identificación de cualquier tipo de microorganismo.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): se usa para la detección de material genético (DNA) del microorganismo a partir de distintos tipos de muestras, entre ellas se encuentra la de materia fecal; este ciclo consta de tres etapas: desnaturalización del DNA de doble cadena, allí las cadenas de DNA se desnaturaliza y se separan a 95°C durante 20-30 segundos, el tiempo depende de qué tan larga es la secuencia a amplificar ya que a mayor secuencia mayor será el tiempo, además depende de la velocidad en la que el termociclador aumenta la temperatura. Hibridación de los primers, estos se alinean al extremo 3' de la secuencia previamente separada e hibridan con la secuencia complementaria, la temperatura óptima para esta fase es de 50-60°C y extensión del cebador por la acción de la enzima DNA polimerasa agrega dNTP's complementarios para formar cadenas completas de DNA y para que esta etapa funcione se requiere de una temperatura de 72°C; la detección final del producto se realiza por un corrido de electroforesis usando geles de agarosa o poliacrilamida y finalmente las bandas presentes se observan por fluorescencia; en esta prueba (PCR convencional) es indispensable el uso de cebadores y controles, al finalizar su ciclo esta proporciona resultados cualitativos, que por medio de los controles identifica si es o no el patógeno en estudio, mientras que la PCR en tiempo real por medio del uso de sondas (oligonucleótidos) marcados con fluorocromos y la cadena complementaria al fragmento que se quiere amplificar permiten la identificación del serotipo (Persson et al, 2012, Nielsen, 2013); esta prueba tiene una alta sensibilidad, sin embargo el seguimiento del cultivo bacteriológico es indispensable si se desea conocer el serotipo de *Salmonella* spp. ya que a partir de las colonias obtenidas en el cultivo se procede al montaje de la PCR (Persson et al, 2012).

### **2.2.6 TRATAMIENTO**

El uso de antiinflamatorios y antimicrobianos ayudan a disminuir los efectos de la infección; el suministro de probióticos es una alternativa terapéutica para la recuperación de la flora intestinal (Fizzo et al, 2006). Con respecto al suministro de antibióticos dependerá de la sensibilidad antimicrobiana y de la zona geográfica dado que algunas cepas de *Salmonella* spp. son multirresistentes (Barrow et al, 2013), por lo que se pueden suministrar diferentes antibióticos, dentro de los cuales se suele utilizar una combinación de trimetoprim y sulfadiazina; también se pueden suministrar antibióticos del grupo beta-lactámicos como Ampicilina y Penicilina; sin embargo dado que puede presentarse resistencia antibacteriana frente a los antibióticos de amplio espectro, se sugiere administrar aminoglucósidos como Estreptomina y Neomicina (Radostits et al, 2006). Adicionalmente se recomienda proveer

una terapia de hidratación que puede ser oral o por vía parental (endovenosa) con el fin de controlar la deshidratación provocada por la diarrea que ocasiona pérdida de agua y electrolitos (Barrow et al, 2013, Delgado et al, 2016).

Los bovinos adultos que se recuperan de la infección clínica, pueden ser portadores sanos que excretan de forma intermitente la bacteria en las heces, es por este motivo que se debe tener cuidado con el tratamiento antibacteriano a emplear, la dosificación y el tiempo de suministro del medicamento (Hesam et al, 2014).

### 2.3 ANTECEDENTES

A lo largo de la historia se ha evidenciado el problema de la salmonelosis en bovinos, hoy día continúa siendo un problema para la economía y la salud pública (Nair et al, 2015; Tadesse et al, 2016). En la tabla 2 se evidencia que esta enfermedad se sigue presentando a nivel mundial con algunos reportes de salmonelosis en bovinos de países de América, Europa, Asia y Oceanía desde el año 2006 hasta el 2015.

**Tabla 2.** Reportes de *Salmonella* spp. en bovinos a nivel mundial

País	Tipo de ganado	Serotipos identificados	Porcentaje de prevalencia	Autor
México	Bovinos sanos sacrificados	S. Newport	32%	Van , 2013
Perú	Lechero	S. Dublin S. Typhimurium S. Newport	42% 40% 25%	Dirksen et al, 2005
Chile	Lechero	S. Typhimurium	57%	Arnold et al, 2015
Brasil	Lechero	S. Typhimurium	34%	Junod et al, 2013
Estados Unidos	Lechero	S. Typhimurium	41%	Kessel et al, 2013
Estados Unidos	Lechero	S. Enterica	40%	Kilonzo et al, 2013

Dinamarca	Lechero	S. Dublin	60%	Baggesen et al, 2006
Francia	Lechero	S. Enteritidis S. Typhimurium	33% 32%	Bolton et al, 2011
Gran Bretaña	Carne	S. Typhimurium S. Dublin	31% 55%	Carrique-Mas et al, 2010
Inglaterra	Lechero	S. Dublin S. Typhimurium S. Kiel	4.3% 3.5% 2%	Bolton et al, 2011
Alemania	Lechero	S. Typhimurium	54%	Bolton et al, 2011
Países Bajos	Lechero	S. Typhimurium S. Enteritidis	47% 29%	Mughini et al, 2014
Japón	Lechero	S. Typhimurium	37%	Tamamura et al, 2010
Irán	Lechero	S. Typhimurium S. Dublin	57% 8%	Hesam et al, 2014
Egipto	Lechero	S. Typhimurium	4.1%	Younis et al, 2009
Nueva Zelanda	Lechero	S. Dublin	10%	Mawly et al, 2015
Australia	Lechero	S. Typhimurium	14.4%	Bailow et al, 2015

## 2.4 IMPLICACIONES EN SALUD PÚBLICA

Es importante destacar que los bovinos y sus subproductos son una de las fuentes comunes de infección con *Salmonella* spp. para los humanos, ya que éste es uno de los patógenos comúnmente asociados con las infecciones transmitidas por los alimentos en todo el mundo lo que ocasiona gastroenteritis, hospitalizaciones y en ocasiones la muerte (Nair et al, 2015), se reporta que anualmente ocurren aproximadamente 600 millones de ETAs, dentro de las cuales el 6,4% se asocia al consumo de productos de origen bovino contaminados con el microorganismo (INS, 2015); siendo los serotipos S. Typhimurium y



*S. Enteritidis* los identificados con mayor frecuencia (Youssef et al, 2012), estas infecciones se encuentran asociadas a países que poseen una ganadería intensiva de bovinos, aves de corral y cría de cerdos (Nair et al, 2015).

Cabe destacar que dicho microorganismo es aislado con frecuencia de bovinos sanos en los mataderos debido posiblemente a la eliminación del patógeno por el tracto gastrointestinal durante el sacrificio de los animales destinados a la comercialización constituyéndose en una fuente importante de contaminación de la canal en mataderos (Kagambega et al, 2013, Flint et al, 2005, Bosilevac et al, 2009), adicionalmente, los trabajadores que por profesión conviven a diario con el ganado infectado, tienen un riesgo mayor de infección zoonótica ya que pueden contraer el microorganismo por medio de la manipulación de los animales, sus excreciones y/o secreciones (Youssef et al, 2012).

### **3. OBJETIVOS:**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la presencia de *Salmonella spp.* en muestras de materia fecal de bovinos en dos hatos lecheros de la Sabana de Bogotá.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Establecer la presencia de *Salmonella spp.* en materia fecal de bovinos sanos.
- Caracterizar bioquímicamente los aislamientos de *Salmonella spp.* obtenidos a partir de muestras de materia fecal.

### **4. METODOLOGÍA**

#### **4.1 TIPO DE ESTUDIO**

Observacional descriptivo, prospectivo de corte transversal

#### **4.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Bovinos de dos hatos lecheros de la Sabana de Bogotá, lo cuales se eligieron por conveniencia de acuerdo a la disponibilidad de los dueños de los hatos para participar en el estudio.

### **4.3 MUESTREO**

Se obtuvieron muestras de materia fecal bovina en 2 hatos lecheros de la Sabana de Bogotá, las muestras se tomaron directamente del recto de los animales y se almacenaron en bolsas selladas, cada muestra se recolectó de forma individual por el veterinario encargado de cada uno de los hatos. Adicionalmente se llenó una encuesta con el fin de recolectar información acerca del bovino; como la raza, edad, identificación, si presentaban o no diarrea y la fuente del agua de consumo suministrada (Anexo 1). Las muestras se transportaron en refrigeración al laboratorio de la Pontificia Universidad Javeriana para su procesamiento.

Para la evaluación de la presencia de *Salmonella* spp en materia fecal es necesario hacer muestreos seriados, lo que aumenta la probabilidad de identificar los animales positivos que están excretando la bacteria de forma intermitente en las heces.

### **4.4 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS**

Las muestras se procesaron de acuerdo a la metodología descrita por Moriarty et al, 2008; Bolton et al, 2011 y Snider et al, 2014.

- Pre enriquecimiento No selectivo

Se pesaron 25g de cada muestra de materia fecal y se adicionaron a 225 ml de agua peptonada estéril, y se incubaron por 24 horas a 37°C.

- Enriquecimiento Selectivo

A partir del caldo de pre-enriquecimiento se tomaron 100µl de la muestra y se adicionaron a 10 mL de caldo tetracionato almacenado en tubos falcon que fueron incubados a 42°C por un periodo de tiempo de 18 – 24 horas.

- Aislamiento en medios selectivos

Las muestras enriquecidas fueron sembradas por agotamiento en medios selectivos y diferenciales para *Salmonella* como agar Hecktoen y agar XLT4 y se incubaron a 37°C durante 24 horas.

Posteriormente se identificaron las colonias compatibles morfológicamente con *Salmonella* spp., caracterizadas por la presencia de un halo transparente alrededor de un precipitado negro central que indica la producción de H<sub>2</sub>S (ácido sulfhídrico), este crecimiento característico se denomina “ojo de pescado”. Finalmente estas colonias se sembraron en el agar Brilliance para *Salmonella* spp.

- Pruebas Bioquímicas

A las colonias presuntivas de *Salmonella* spp. se les realizaron pruebas bioquímicas convencionales como oxidasa, SIM, UREA, TSI. La oxidasa se procesó tomando una colonia pura bacteriana y se suspendió sobre la tira reactiva de oxidasa obteniendo para *Salmonella* spp un color morado (MacFaddin, 2000). En el medio TSI se sembró la colonia pura por punción y estría, la lectura se realizó a las 18-24 horas de incubación a 37°C (MacFaddin, 2000). El medio SIM se sembró por punción a partir de una colonia pura, con el fin de detectar movilidad y producción de H<sub>2</sub>S; la lectura se realizó a las 18-24 horas de incubación a 37°C (MacFaddin, 2000). La úrea se sembró por punción en el medio a partir de una colonia pura; la lectura se realizó a las 4 horas de incubación a 37°C (MacFaddin, 2000). Adicionalmente se utilizó el panel de pruebas bioquímicas Rapid One para enterobacterias, el cual se inoculó con una suspensión bacteriana y se incubó a 37°C durante 4 horas, después de las cuales se procedió a la lectura, lo que permitió la obtención de un código numérico que fue leído en la base de datos <http://www.remel.com/eric/> obteniendo la identificación presuntiva del serotipo de *Salmonella* spp. presente en la muestra analizada (RapidD 20E, 2007).

## **5. RESULTADOS**

### **5.1 Características de los Hatos evaluados**

#### **5.1.1 Hato 1**

Este primer hato de la Sabana de Bogotá analizado fue un hato pequeño en comparación con el segundo, contó con un total de 16 bovinos con edades entre los 5 y 15 años; el agua

suministrada provenía directamente del acueducto, la alimentación suministrada es pasto suplementado con concentrado; de los bovinos muestreados, tres presentaban diarrea, en uno de ellos adicionalmente se observó una masa en el ano.

En este hato en el primer muestreo se tomaron 16 muestras iniciales para el análisis pero en el segundo muestreo se analizaron 12 muestras dado que cuatro bovinos ya no se encontraban en la finca en el momento de su realización.

### 5.1.2 Hato 2

En el segundo hato se analizaron un total de 64 bovinos con edades entre los 2 y 11 años; el agua suministrada provenía de un vallado, la alimentación se suplementaba con concentrado y ninguno presentó diarrea. El número de muestras analizadas para este hato fue de 64 en cada muestreo.

## 5.2 Bovinos evaluados

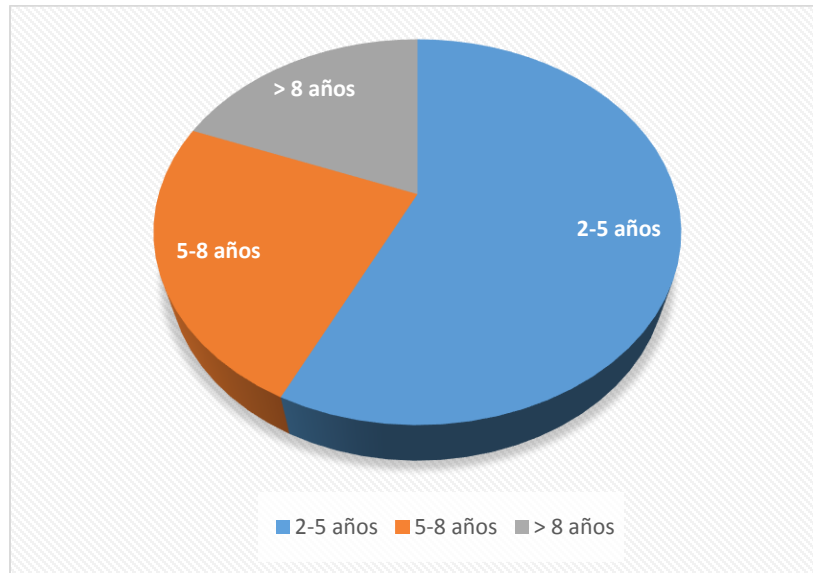
Se muestrearon un total de 80 animales entre los dos hatos estudiados de las razas Normando y Holstein (Tabla 3).

**Tabla 3.** Número de muestras y razas de los bovinos.

Hatos evaluados	N° de Muestras	Raza
1	16	Normando
2	64	Holstein
Total	<b>80</b>	

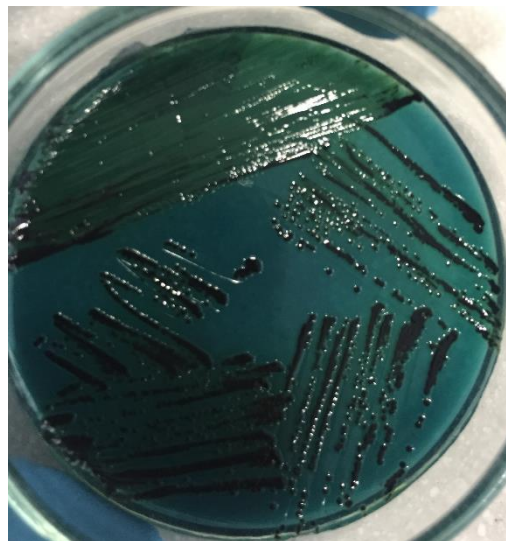
### 5.3 Identificación de *Salmonella* spp.

Del total de las muestras evaluadas (n=80), se logró determinar la presencia de *Salmonella* spp. en el 26,3% (n=21) de las muestras, todas fueron detectadas en el segundo muestreo realizado al hato 2. Las edades de los bovinos positivos se estuvieron entre los 2-11 años de edad, siendo los bovinos entre los 2 y 5 años los más comúnmente afectados, como se observa en la Figura 1.



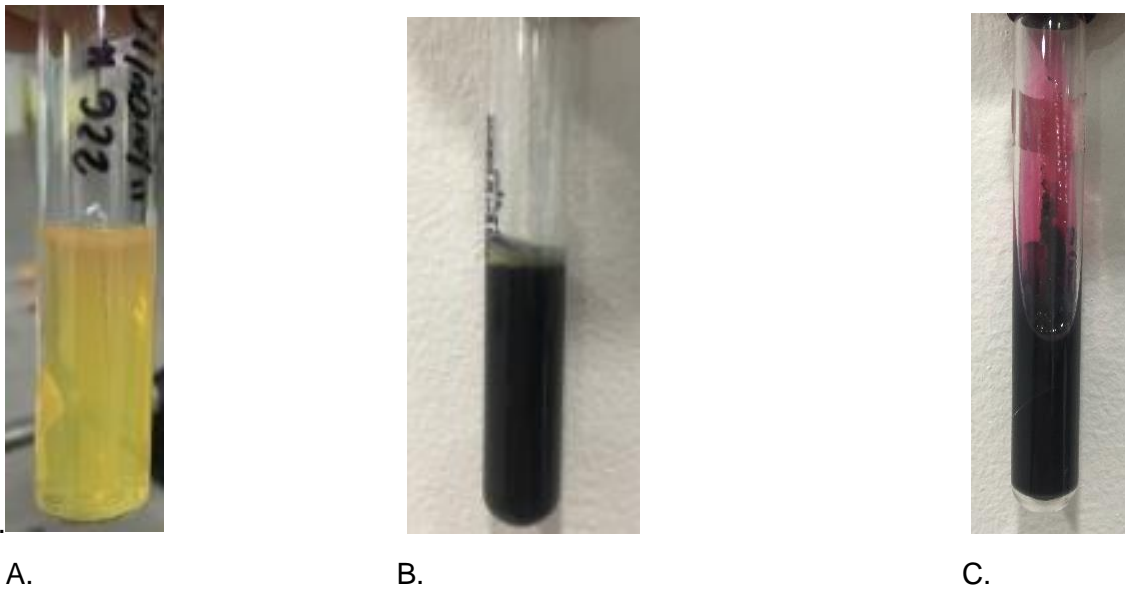
**Figura 1.** Distribución de los bovinos positivos para *Salmonella* spp. por grupos etáreos

En el hato 1 (n=16) no se logró identificar el microorganismo en ninguno de los dos muestreos. La presencia de *Salmonella* spp. se determinó mediante la siembra de las muestras enriquecidas en los medios Hecktoen y XLT4, en los que se evidenció crecimiento con un halo transparente alrededor de un precipitado negro central que indica la producción de H<sub>2</sub>S (ácido sulfhídrico), característico denominado “ojo de pescado” (Figura 2).



**Figura 2.** Colonias de *Salmonella* spp. en Medio Hecktoen.

Las colonias compatibles morfológicamente con *Salmonella* spp, fueron sembradas nuevamente en los medios selectivos para obtener colonias puras, a las cuales se les realizaron pruebas bioquímicas como úrea, SIM, TSI obteniéndose resultados compatibles con lo reportado para este el microorganismo: úrea negativa, en el SIM se evidenció movilidad positiva, indol negativo y producción de H<sub>2</sub>S y en TSI las características obtenidas fueron K/A, producción de gas y producción de H<sub>2</sub>S (Figura 3)



**Figura 3.** Pruebas bioquímicas para *Salmonella* spp.: A. Úrea, B. SIM, C. TSI

Adicionalmente se realizaron pruebas bioquímicas mediante Rapid One, en las que al hacer la lectura en el programa, evidenció compatibilidad con *Salmonella* spp. (Figura 3)



**Figura 4.** Galería de pruebas bioquímicas Rapid<sup>TM</sup> ONE para *Salmonella* spp.

Finalmente, las colonias compatibles con *Salmonella* spp. fueron sembradas en medio selectivo agar Brilliance para *Salmonella* spp., en el que se obtuvieron colonias de color púrpura, cremosas, borde entero y elevadas, la producción de colonias con este. El color característico se debe a la interacción de dos cromógenos presentes en el medio que se activan al reaccionar con dos enzimas presentes en el microorganismo que son caprilato esterasa y beta glucosidasa, dando como producto final la aparición de color púrpura en el medio (Figura 5).



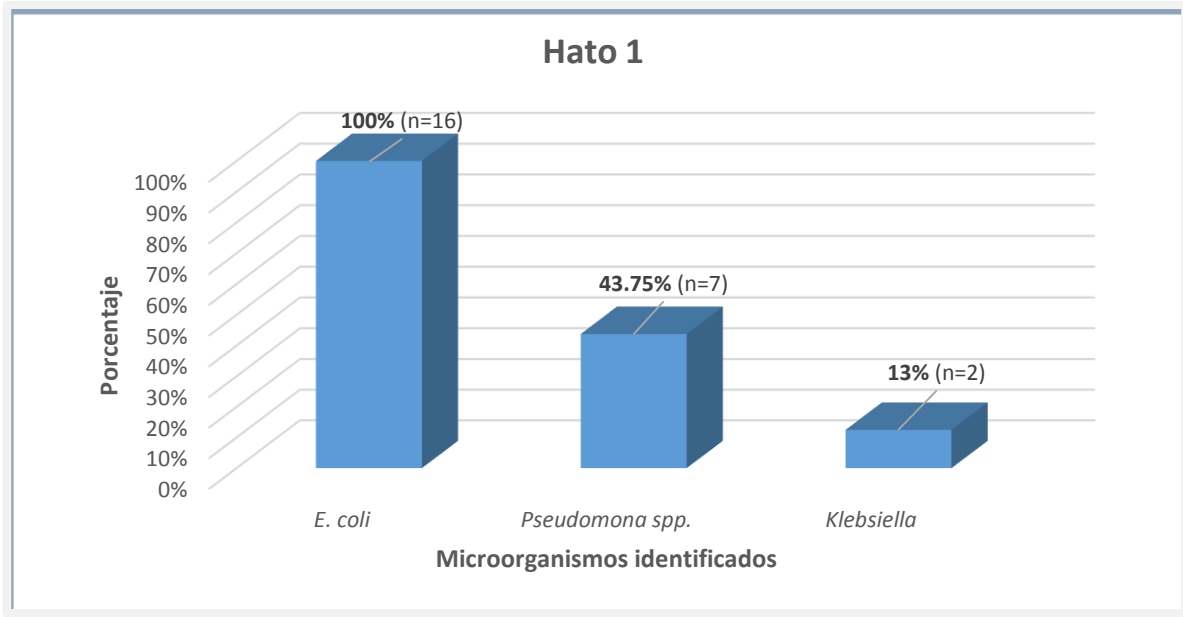
**Figura 5.** Colonias características de *Salmonella* spp. en Agar Brilliance.

#### **5.4 Otros Microorganismos identificados**

Cabe destacar que durante los dos muestreos realizados en los dos hatos de la Sabana de Bogotá a partir de las muestras de materia fecal, se identificaron otros microorganismos (Anexo 2).

##### **5.4.1 Microorganismos identificados en el hato 1**

En los dos muestreos realizados del primer hato se obtuvieron microorganismos como *E.coli* en un 100% (n=16), *Pseudomona* spp. en un 43,75% (n=7) y *Klebsiella* en un 12,5% (n=2) y (Figura 6)

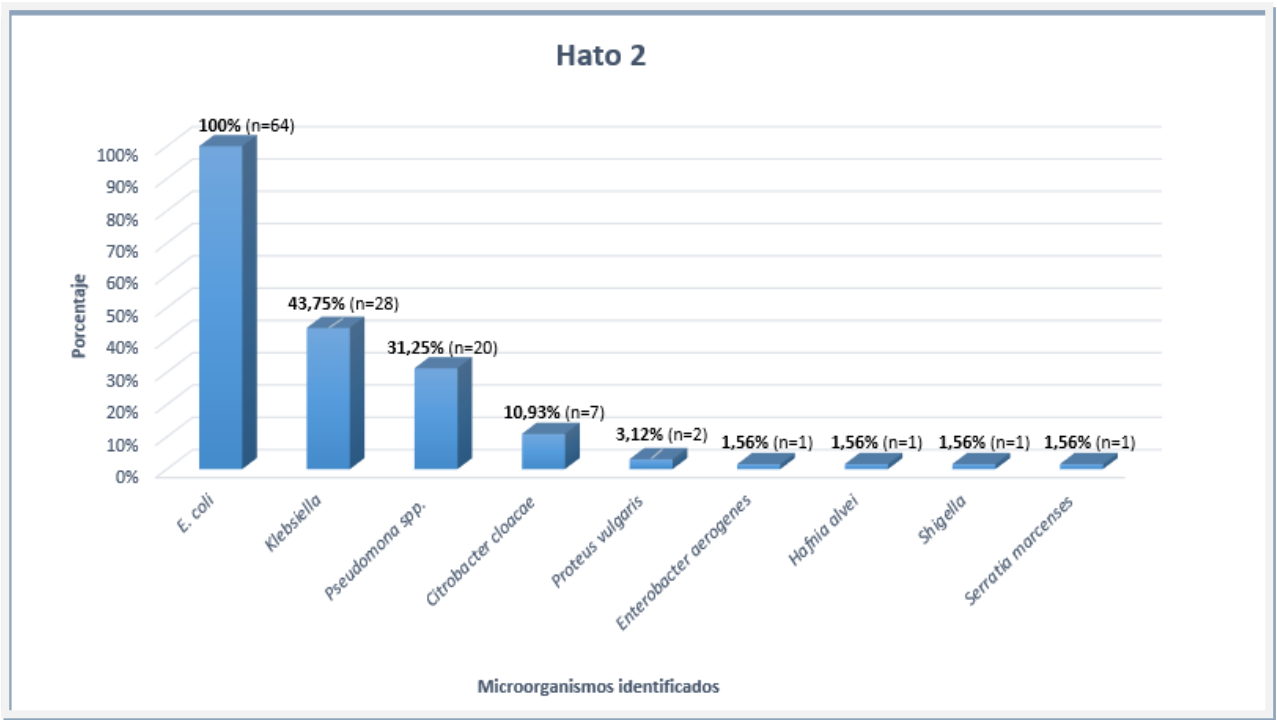


**Figura 6.** Porcentaje de Microorganismos aislados en las muestras de materia fecal del hato 1.

#### 5.4.2 Microorganismos identificados en el hato 2

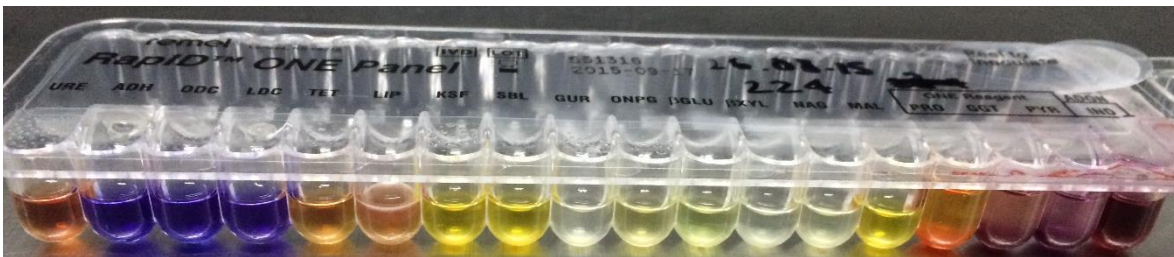
En los dos muestreos realizados del segundo hato se aislaron microorganismos como *E. coli* en un 100% (n=64), *Klebsiella* en con 43,75% (n=28), *Pseudomona spp.* en un 31,25% (n=20), *Citrobacter spp.* en un 10,93% (n=7), *Proteus vulgaris* en un 3,12% (n=2) y *Enterobacter aerogenes*, *Hafnia alvei*, *Shigella spp.* y *Serratia marcenses* en un 1,56% respectivamente para cada una de estas (n=1) (Figura 7)





**Figura 7.** Porcentaje de Microorganismos aislados en las muestras de materia fecal del hato 2.

Se realizaron pruebas bioquímicas mediante la galería RapidONE, obteniendo una identificación preliminar de los microorganismos presentes en las muestras obteniéndose: *Shigella* spp., *Citrobacter cloacae*, *Serratia marcescens* y *Hafnia alvei* en una muestra cada una, con probabilidades de identificación del 84%, 70%, 74,2% y 71,30% respectivamente (Figura 8).



**Figura 8.** Galería de pruebas bioquímicas Rapid™ ONE para *Shigella* spp.

## 6. DISCUSIÓN

*Salmonella* spp. es un microorganismo que tiene la capacidad de colonizar una gran variedad de hospederos dentro de los que se encuentran mamíferos, anfibios, reptiles, aves, insectos y seres humanos; hay dos especies principales de *Salmonella* spp., *S. entérica* y *S. bongori*; siendo la mayoría de casos de salmonelosis en animales y humanos causados por la especie entérica debido a la gran cantidad de serotipos que se encuentran en este grupo (Tadesse et al, 2016). Se han aislado diversos serotipos de este patógeno en materia fecal de bovinos lecheros aparentemente sanos, los cuales pueden estar presentes en el tracto gastrointestinal, por lo que bovinos asintomáticos, enfermos, y recuperados pueden excretar el microorganismo de forma intermitente en materia fecal; adicionalmente, *Salmonella* spp. puede sobrevivir fuera del hospedero en ambientes favorables por lo que su eliminación en las heces puede aumentar el riesgo de infección dentro de la granja (Tadesse et al, 2016, Cummings et al, 2009).

La variación en la positividad encontrada para *Salmonella* spp. en los hatos evaluados podría estar relacionada por una parte, con la diferencia en la cantidad de muestras evaluadas en cada uno de ellos (16 y 64 respectivamente), siendo el hato con mayor número de muestras, en el que se aisló el microorganismo, dado que entre más grande sea el hato mayor es la posibilidad de tener animales positivos lo que incrementa el contacto entre bovinos y aumenta la posibilidad de transmitir el patógeno dentro del rebaño (Fosler et al, 2005, Tadesse et al, 2016). Adicionalmente otras vías de transmisión de este patógeno dentro de las granjas lecheras puede deberse a la compra de ganado previamente contaminado, la convivencia con otros animales como aves, roedores y adicionalmente el agua y alimentos contaminados que diseminan *Salmonella* spp. (Cummings et al, 2009)

Por otra parte, la presencia de *Salmonella* spp. podría estar asociada con la calidad del agua suministrada a los animales, ya que en el segundo hato ésta provenía de un vallado que podría provenir del río de Bogotá, lo que aumenta el riesgo de infección para los animales al consumir agua contaminada con el microorganismo (Rosenbaum et al, 2012). Estudios previos mencionan que la ganadería es un factor que ha influido en la alteración de la calidad microbiológica del agua superficial y subterránea (Collins 2004; Davies-Colley et al, 2004; Close et al, 2008), por tanto, el suministro de agua contaminada con bacterias entéricas se considera como una fuente de exposición a patógenos para el ganado y como consecuencia los bovinos pueden contraer infecciones en un período de tiempo corto (LeJeune et al, 2001); en un estudio realizado en Washington, Oregon e Idaho se evaluaron

473 muestras de agua de vallado que eran suministradas para el consumo a los bovinos, determinándose la presencia de distintas bacterias dentro de las cuales *Salmonella* spp. estuvo presente en un 0,8% de las muestras evaluadas, lo que puede asociarse a la contaminación de estas fuentes de agua con materia fecal de animales que están excretando el microorganismo (LeJeune et al, 2001). En otro estudio realizado por Rodríguez et al (2012) se analizó la calidad del agua suministrada en 20 hatos lecheros pertenecientes a diversos municipios de Antioquia - Colombia encontrándose que los principales agentes patógenos asociados a contaminación del agua fueron *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia coli* y coliformes, por lo que el suministro de agua contaminada a los bovinos pudo ser una fuente de infección por dichos patógenos.

Por otra parte, la alimentación de los animales en continuo pastoreo puede asociarse a la infección con el microorganismo, dado que los bovinos portadores de *Salmonella* spp. pueden excretar la bacteria en la materia fecal causando contaminación de las praderas, convirtiéndolas en fuente de contaminación para el resto del hato, ya que aunque la materia fecal sea removida del pasto la bacteria puede sobrevivir en éste por un periodo de tiempo aproximado de 2 semanas (Barrow et al, 2013); adicionalmente, las heces son una fuente de contaminación para el agua y alimentos disponibles para el suministro de los animales (Cummings et al, 2009).

Estudios reportados en la literatura evidenciaron prevalencias del 22,5% en hatos lecheros en Estados Unidos; datos que coinciden con lo observado en este estudio ya que se encontró positividad en la muestras evaluadas en un 26,3% en el segundo muestreo, lo que puede asociarse a la excreción intermitente del microorganismo en las heces (Nielsen et al, 2004, Cummings et al, 2009; Pardo y Oliver, 2012, Nielsen, 2013, Barrow et al, 2013) y por tal razón en el primer muestreo no se encontró positividad en las muestras estudiadas. Por otro lado, McEvoy et al (2003) determinaron positividad en muestras de materia fecal de solo el 2%, resultados similares a los reportados por Tadesse et al (2016) quienes establecieron una positividad del 2,3%; por su parte Fegan en el (2004) encontraron una prevalencia de 6,8% para *Salmonella* spp. en ganado de carne; sin embargo en estudios realizados en Nueva Zelanda no encontraron muestras positivas para *Salmonella* spp. (Moriarty et al 2008). Esta diferencia de resultados entre estos estudios puede radicar en el uso de distintos protocolos para el aislamiento de dicho microorganismo, la cantidad de muestras evaluadas, tamaño de los hatos y las edades de los bovinos (Tadesse at al, 2026).

En investigaciones realizadas por Kagambega et al (2013) se estableció una alta prevalencia para *Salmonella* spp. encontrándose en el 52% de las muestras de materia fecal evaluadas.

Dentro de otros posibles factores de riesgo asociados a la presencia de *Salmonella* spp. en muestras de materia fecal de bovinos, se ha identificado que la edad juega un papel importante en cuanto al porcentaje de positividad para *Salmonella* spp., como lo reportan Tadesse et al (2016) quienes determinaron que el mayor porcentaje observado fue de 4,5% en bovinos menores de 6 meses de edad, para animales entre 2-5 años fue de 2,9% y para bovinos con edades entre los 5 - 8 años y los mayores de 8 años fueron de 1,6% y 2,5 % respectivamente. Esto difiere de lo observado en este estudio dado que los bovinos entre los 2-5 años representaron el 57% de los casos positivos, seguido por el grupo de bovinos de 5- 8 años (24%) y finalmente los bovinos mayores a 8 años fueron aquellos que representaron menor porcentaje para *Salmonella* spp. (19%), esta diferencia entre los resultados del estudio anterior y el presente puede deberse a que los animales evaluados en el presente estudio fueron animales adultos en producción, y el sistema inmunológico de los bovinos adultos se encuentra desarrollado lo que implica una mejor respuesta por parte del sistema inmune frente a antígenos, lo que no ocurre con terneros ya que ellos tienen mayor susceptibilidad de adquirir infecciones (Wood et al, 2015)

Aunque en el hato 1 no se evidenció la presencia de *Salmonella* spp., cabe destacar que 3 bovinos presentaban diarrea en el momento de la toma de muestra, por lo que no se descarta la posibilidad que en este hato esté presente el patógeno, dado que esta bacteria se excreta de forma intermitente en bovinos infectados (Nielsen, 2013), adicionalmente, Cho et al (2014) reportan que *Salmonella* spp. es un agente causal de diarrea en ganado lechero, la cual se asocia posiblemente con animales portadores del microorganismo (Cummings et al 2009; Cho et al 2014; Tadesse et al 2016).

Respecto a los serotipos de *Salmonella* spp. encontrados en materia fecal de bovinos, diferentes estudios evidencian que los más comunes son *S. Typhimurium* y *S. Dublin*, por ejemplo el estudio llevado a cabo por O'Leary (2014) determinó la presencia de *S. Dublin* en un 85% de muestras de materia fecal de ganado irlandés, seguido por *S. Typhimurium* estando presente en 11% de los aislamientos. Otro estudio realizado por Youssef et al (2012) tuvo en cuenta ganado vacuno lechero recuperado de salmonelosis o aquellos que cursaban con signos clínicos en el momento de toma de muestra y en sus resultados se

encontró *S. Dublin* en un 8,4% de las muestras evaluadas. Estos dos estudios mencionados demuestran que es importante identificar el(los) serotipo(s) hallado(s) en el presente estudio.

Adicionalmente, se evidenció la presencia de otros microorganismos, en primera instancia, la bacteria con mayor prevalencia fue *E. coli*, lo que coincide con otros estudios en los que también se reporta una alta prevalencia de esta bacteria estando presente en la mayoría de las muestras, esto se debe probablemente a que *E. coli* hace parte de la flora normal del tracto gastrointestinal de los bovinos (Nam et al, 2004; Moriarty et al, 2008; Sinton et al, 2007; Hasan et al, 2013) y por dicha razón se encontró en todas las muestras evaluadas en el presente estudio. Por otra parte, en un estudio realizado por Dong et al (2011) se sugiere que la presencia de dicho microorganismo está relacionada con la dieta del bovino, en sus resultados se demuestra que en animales alimentados solo con pasto hay una menor posibilidad de hallar *E. coli* en las muestras, que en aquellos bovinos en cuya alimentación se suministra concentrado ya que éste aumenta la posibilidad de encontrar esta bacteria a nivel del colon, lo que podría explicar su presencia en el 100% de las muestras evaluadas dado que la alimentación suministrada en los dos hatos fue pasto y concentrado.

Dentro de los otros microorganismos hallados en este estudio se aisló *Klebsiella* spp. en un 56,25% del total de las muestras evaluadas, lo que coincide con reportes de Munos et al (2006) quienes determinaron prevalencias en materia fecal de bovinos lecheros del 76% y 77% en el primer y segundo muestreos respectivamente, esto podría estar asociado a que los bovinos son portadores persistentes de esta bacteria; otra posible causa es la higiene deficiente en los rebaños o el consumo de alimentos y agua contaminados con materia fecal de animales portadores, lo que se puede convertir en un ciclo de transmisión oro-fecal dentro de las granjas (Munos et al, 2006). Por otra parte, en un estudio en el que se evaluaron 10 hatos lecheros en Nueva York se determinó una positividad para *Klebsiella* spp. en más del 80% de las muestras evaluadas, la presencia de este microorganismo en materia fecal se asocia con la susceptibilidad de los bovinos para adquirirla del medio ambiente sin discriminar edades de los bovinos (Ahlstrom et al, 2006). Otro estudio realizado en New York y Massachusetts determinó una prevalencia del 80% para *Klebsiella* spp. en hatos lecheros (Munos et al, 2006).

Además de los microorganismos mencionados anteriormente, se determinó la presencia de otras bacterias como *Shigella* spp., la cual tiene tropismo por las placas de peyer presentes

en el íleon y se excreta en materia fecal por animales portadores de este agente (Naylor et al, 2003), lo que puede explicar su hallazgo en una de las muestras evaluadas en este estudio. Por otro lado, como lo reporta el estudio realizado por Rodríguez et al (2012), este microorganismo se encuentra en agua de mala calidad, esto es otra posible razón para explicar la presencia de esta bacteria en las muestras evaluadas, dado que el agua suministrada a los bovinos del hato 2 no era de buena calidad ya que proviene de un vallado.

En un estudio llevado a cabo por Barlow et al (2004) donde se evaluaron 50 muestras de materia fecal bovina se determinó la presencia de distintas enterobacterias dentro de las cuales estuvo *Proteus vulgaris*, hallazgo con el que coincide el presente estudio, en el que se encontró una muestra positiva para este microorganismo.

Finalmente otros microorganismos aislados en los animales fueron *Pseudomonas* spp, *Hafnia alvei*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes* y *Citrobacter cloacae*, no se encontraron estudios en los que reporten la presencia de estos microorganismo en materia fecal; sin embargo un estudio realizado por Kim y Wei (2007) en heces, se encontró una muestra positiva para *Enterobacter cloacae* cuya presencia se asocia con la microbiota del intestino grueso de los bovinos; lo que podría explicar el hallazgo de *Enterobacter aerogenes* en la materia fecal evaluada.

## **7. CONCLUSIONES**

1. Se determinó la presencia de *Salmonella* spp. en el 26,3% de las muestras analizadas en los dos hatos evaluados.
2. La presencia de *Salmonella* spp. podría asociarse con la calidad del agua suministrada a los animales.
3. La mayor presencia de *Salmonella* spp estuvo en los bovinos jóvenes.

## **RECOMENDACIONES**

1. Es recomendable determinar los serotipos de *Salmonella* spp. aislados en este estudio.
2. La presencia de *Salmonella* spp. hallada en las muestras de materia fecal de bovinos sanos de dicho estudio, constituye un hallazgo importante por lo que es importante

establecer adecuadas medidas del manejo en los hatos ganaderos para garantizar la inocuidad de los productos.

3. Se recomienda realizar más estudios en los que se amplíe el muestreo a un mayor número de hatos en la Sabana de Bogotá, para poder establecer la prevalencia real de *Salmonella* spp. en la región.

4. Es recomendable mejorar la calidad del agua suministrada a los bovinos del hato 2 con el fin de disminuir el riesgo de adquirir *Salmonella* spp. y evitar salmonelosis bovina dentro del hato.

## 8. BIBLIOGRAFIA

Abdunaser D, Almabouk F, Ashraf W, Yves M, Oliver C, Moez S. Combination of most probable number method with light cycler real time PCR assay for rapid quantification of *Salmonella* in artificially and naturally contaminated bovine fecal samples. *Journal of Veterinary Science* 2009; 23:231-243.

Ahlstrom C, Munoz MA, Rauch BJ, Zadoks RN. Fecal shedding of *Klebsiella pneumoniae* by dairy cows. *Journal Of Dairy Science* 2006; 89:3425-3430.

Annas S, Abubakar M, Zamri-Sdad M, Jesse F, Zunita Z. Pathological changes in the respiratory, gastrointestinal and urinary tracts of buffalo calves following experimental hemorrhagic septicemia. *Pakistan Veterinary Journal* 2015; 35(4):430-435.

Anshu S, Mittal D, Singh M. Mastitis pathogens and their antibiogram-a study of 4383 bovine samples. *Journal Of Dairy Science* 2015; 16:252-255.

Arnold ME, Gosling RL, Maltelli F, Daves H. Evaluation of the sensitivity of fecal sampling detection of monophasic *S.Typhimurium* and others salmonella in cattle and pigs. *Epidemiology Infection* 2015-, 8:1681-1691.

Asocebú [Internet]. Colombia, actualizado en el 2015. Disponible en: <http://www.asocebu.com/index.php/blog/2014-08-27-14-06-32>.

Baggesen DL, Nielsen LR, Bodker R, Elsboll AK. Growth inhibitory factors in bovine feces impairs detection of S.Dublin by conventional culture procedure. *Journal of Applied Microbiology* 2006; 10:1364-1370.

Bailow RS, McMillan KE, Duffy L, Fegan N, Jordan D, Mellor GE. Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella and E.coli from Australian cattle populations at slaughter. *Food Prot* 2015; 5:912-920.

Barlow RS, Pemberton JM, Desmarchelier PM, Gobius KS. Isolation and characterization of Integron-containing bacteria without antibiotic selection. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy* 2004; (4)3:838-842.

Barrow PA, Methner U. Salmonella in Domestic Animal. 2th. Editorial CABI. 2013; pp221-250.

Bolton D, Neill CJ, Fanning S. A preliminary study of Salmonella, verocytotoxigenic E.coli and Campylobacter on four mixed farms. *Veterinary Medicine* 2011; 4: 512-515.

Bosilevac JM, Arthur TM, Britchaharnay DM, Kalchayahand N, King DA, Shackelford SD, Wheeler TL, Koochmargie M. Prevalence and enumeration of E.coli O157:H7 and Salmonella in US abattoirs that process more than 1000 head of cattle per day. *Journal of Food Protection* 2009; 72:1272-1278.

Caffer IM, Terrando R. Manual de procesamientos para la caracterización de Salmonella. *Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas* 2001; 1-37.

Castillo A, Martínez LH. Salmonellosis y campilobacteriosis, las zoonosis emergentes de mayor expansión en el mundo. *Veterinary and Zoo* 2008; 39:81-90.

Cardozo FC, Carranza JC, Rubiano J, Baquero I, García E, Gómez P. Plan de modernización tecnológica de la ganadería bovina colombiana. 1<sup>ra</sup> Edición. Publicación de CORPOICA. 2002; pp1-25.

Carrique-Mas JJ, Willmington JA, Watson RH. Salmonella infection in cattle in Great Britain 2003 - 2008. *Veterinary Record* 2010; 160:560-565.

Charles C, Renter DG, Thomson DU. Evaluation of the effects of a commercially available S. Newport siderophore receptor and porin protein vaccine on fecal shedding of *Salmonella* bacteria and health and performance of feedlot cattle. *American Journal of Veterinary* 2011; 72:239-247.



Cho YI, Yoon KJ. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal Veterinary Science* 2014; 15(1):1–17.

Close M, Dann R, Ball A, Savill M, Pirie R, Smith Z. Microbial groundwater quality and its health implications for a border-strip irrigated dairy farm catchment, South Island, New Zealand. *Journal Health* 2008; 6:83–98.

Collins R. Fecal contamination of pastoral wetlands. *Journal Environmental Quality* 2004; 33:1912–1918.

Cortes, E. Descripción de técnicas fenotípicas y moleculares para la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* y micobacterias atípicas en el laboratorio clínico. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, 2009.

Costa FL, Piaxao EA, Tsolis RM, Bäumlér AJ, Santos RL. Salmonellosis in cattle: Advantages of being an experimental model. *Veterinary Science* 2012; 93:1-6.

Cummings K.J, Warnick L.D, Cripps C.J. The incidence of salmonellosis among dairy herds in the northeastern United States. *American Dairy Science Association* 2009; (8):3766-3774.

Cummings KJ, Warnick LD, Elton M, Grohn YT, McDonough PL, Siler JD. The effect of clinical outbreaks of salmonellosis in the prevalence of fecal Salmonella shedding among dairy cattle in New York. *Foodborne Pathogens and Diseases* 2010; 7:815-823.

DANE [internet]. Colombia; actualizado el 14 de agosto de 2015. Disponible en: [http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/pib/bol\\_PIB\\_dem\\_ltrim15.pdf](http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/pib/bol_PIB_dem_ltrim15.pdf)

Daly RF, Nelger RD. Outbreaks of Salmonella enterica serotype Newport in a beef cow-calf herd associated with exposure to bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Medicine* 2008; 233:618-623.

Davies-Colley, Nagels R, Smith S, Young R, Philips CJ. Water Quality impact of a dairy cow herd crossing a stream. *NZ Journal Marine Fresh* 2004; 38:569–576.

Delgado MV, Sandoval R, Uribe E, Montenegro M. Salmonellosis de vacas lecheras en el Perú. *Clinica de Animales Mayores* 2016; 3:1-6.

Dirksen G, Gründer MS. Medicina interna y cirugía del bovino. 4ta edición. Editorial Intermédica. 2005; pp468-665.

Divers TL, Peek SF. Rebhun's diseases of dairy cattle. *Saunders Elsevier* 2008; 4: 30-35.

Dong G, Liu S, Wu Y, Lei C, Zhou J, Zhang S. Diet-induced bacterial immunogens in the gastrointestinal tract of dairy cows: Impacts on immunity and metabolism. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2011; 53:48.

Doxey DL. Patología clínica y Procedimientos en Diagnóstico en Veterinaria. 3 edición. Editorial El Manual Moderno. 2005; pp1-369.

FAO [internet]. Actualizado en el 2015. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a0255s/a0255s02.pdf>

FEDEGAN [internet]. Colombia; actualizado en septiembre de 2015. Disponible en: <http://es.slideshare.net/Fedegan/fedegananimalganaderoenfermedades-afectanproduccionbovinacolombia>

Fegan N, Vandrelaine G, Desmarchelier P. Quantification and prevalence of *Salmonella* in beef cattle presenting at Slaughter. *Journal of Applied Microbiology* 2004; 97:892-898.

Figueroa L, Rodríguez A. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* spp. *Revista Latinoamericana* 2005; 47:25-42.

Fizzo LS, Soto LP, Bertozzi E, Martil LE, Rosmini MR. Evaluación in vitro de las capacidades probióticas microbianas orientadas al diseño de inóculos probióticos multiespecie para ser utilizados en la crianza de terneros. *Ciencias Veterinarias* 2006; 5:71-80.

Flint JA, Duynhovent T, Angulo FT, Braun P, Kim K, Scallan E, Fitzgerald M, Adak GK, Scokett P, Walke H. Estimating the burden of acute gastroenteritis. *Clinical Infectious Diseases* 2005; 41:698-704.

Fossler C, Wells J, Kannene P, Ruegg L, Warnick L, Eberly E, Godden M, Halbert A. Cattle and faeces sample factor associated with the presence of *Salmonella* in dairy farms. *Veterinary Medicine* 2005; 67:39-53.

Fostern DM, Smith GW. Pathophysiology of diarrhea in calves. *Applied Environmental Microbiology* 2009; 25:13-36.

González N, Velaide R, Mentaberre G, Serrano E, Mateos A, Dominguez L, Lavin S. Lack of evidence of spill-over of *Salmonella* entérica between cattle and sympatic Iberian Ibex from a protected área in Catalonia, Spain. *Emergency diseases* 2014; 61:378-384.

Grinberg A, Pomrow WE, Weston JF, Ayanegui-Alcerreca A, Knight D. The occurrence of *Cryptosporidium*, *Campylobacter* and *Salmonella* in newborn dairy calves in the Manawatu region. *Journal Veterinary Medicine* 2005; 53:315-320.

Hasan I, Neval BA, Nurettin I, Cumali O, Abdullah K. Prevalence of four enteropathogens with immunochromatographic rapid test in the feces of diarrheic calves in East and Southeast of Turkey. *Pakistan Veterinary Journal* 2013; 33:496-499.

Hesam AH, Mehrnaz R, Hesam AS. Bovine salmonellosis in Northeast of Iran: Frequency, genetic and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* spp. *Asian Pacific Journal of tropical Biomedicine* 2014; 4:1-7.

ICA. Censo pecuario nacional [Internet] – 2015. Disponible en: <http://www.ica.gov.co/getdoc/8232c0e5-be97-42bd-b07b-9cdbfb07fcac/Censos-2008.aspx>

INS. Instituto Nacional de Salud [Internet] – 2015. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/SubdireccionVigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Enfermedades%20Trans.%20por%20alimentos.pdf>

Janes M. Comparison of the environmental survival characteristics of salmonella dublin and salmonella typhimurium. *Veterinary Microbiology* 2012; 509-514.

Junod T, López J, Gadické P. Estudios de susceptibilidad antimicrobial de *S. Enteritidis* de origen animal. *Revista Medica de Chile* 2013; 141:1-8.

Kagambega A, Lienemann T, Aulu L, Barro N, Sitonen A, Haukka K. Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* from the feces of cattle, poultry and hedgehogs in Burkina faso and their comparision to human *Salmonella* isolates. *Food and Environmental Microbiology* 2013; 5:21-25.

Kahn LH. Confronting zoonoses, linking human and veterinary medicine. *Emergency Infectious Disease* 2006; 12:556-561.

Kemal J. A Review on the Public Health Importance of Bovine Salmonellosis. *Veterinary science and Technology* 2014;(5):2157-7579.

Kessel J, Kains S, Hovingh E. Regional distribution of two dairy associated *Salmonella enterica* serotypes. *Foodborn Pathogens Diseases* 2013; 5:448-455.

Kilonzo C, Vivas EJ, Russel MT, Fernández KL, Atwill ER. Fecal shedding of zoonotic foodborn pathogens by wild rodents in a major agricultural region of the central California Coast. *Applied Environ Microbiology* 2013; 20:6337-6334.

Kim SH, Wei CL. Expression of AMPc betalactamase in *Enterobacter cloacae* isolated from letail ground beef, cattle farm and processing facilities. *Journal Of Applied Microbiology* 2007; 103:400-408.

LeJeune J, Besser T, Merrill N, Rice D, Hancock D. Livestock drinking water microbiology and the factors influencing the quality of drinking water offered to cattle. *Journal Dairy Science* 2001; 84(8):1856-1862.

Loeb E, Toussaint M, Rutten G, Koeman P. Dry gangrene of the extremities in calves associated with *Salmonella* Dublin infections: a possible immunomediated reaction. *Journal Comp Pathology* 2006; 134:366-369.

MacFaddin Pruebas bioquímicas para la Identificación de bacterias de Importancia clínica. 2000. 3° edición. Editorial panamericana.

McEvoy JM, Doherty AM, Sheridan JJ, Blair S, McDowell A. The prevalence of *Salmonella* spp. in bovine faecal, rumen and carcass samples at a commercial abattoir. *Journal Applied Microbiology* 2003; 94:693–700.

Mawly J, Gringberg A, Plattley D. Prevalence of endemic enteropathogens of calves in New Zealand dairy farms. *Nz Veterinary* 2015; 170:65-72.

Moriarty EM, Sinton LW, Mackenzie ML, Karki N, Wood DR. A survey of enteric bacteria and protozoans in fresh bovine faeces on New Zealand dairy farms. *Journal Of Applied Microbiology* 2008; 2015-2015.

Mughini L, Enserink R, Frieseman I, Heck M, Duynhoven V, Pelt W. Risk factors for human salmonellosis originating from pigs, cattle, chickens and eggs a combined case-control and source attribution analysis. *Plos One* 2015; 9:1-9.

Munoz MA, Zadoks RN. Short communication: Patterns of fecal shedding of *Klebsiella* by dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2006; 90:1220-1224.

Nair A, Balasalavanan T, Malik VS, Kumal R, Rawwool DB. Isolation and identification of *Salmonella* from diarrheagenic infants and Young animals, sewage waste and fresh vegetables. *Veterinary World* 2015; 5:669-673.

Nam HM, Murinda SE, Nguyen LT, Oliver SP. Evaluation of universal pre-enrichment broth for isolation of *Salmonella* spp., *E.coli* and *Listeria monocytogenes* from dairy farm environmental samples. *Foodborne Pathogens Diseases* 2004; 1:37-44.

Naylor SW, Low CJ, Besser TE, Mahajan G, Gunn MC, Pearce MC, McKendrick IJ, Smith D, Gally DL. Lymphoid Follicle-Dense mucosa at the terminal rectum is the principal site of colonization of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in the Bovine Host. *Infection And Immunity* 2003; 1505-1512.

Nielsen LR. Review of pathogenesis and diagnostic methods of immediate relevance for epidemiology and control of *Salmonella* Dublin in cattle. *Veterinary Microbiology* 2013; 162:1-9.

Nielsen LR, Schukken HY, Gróhn YT, Elsboll AK. *Salmonella* Dublin infection in dairy cattle: Risk factors for becoming a carrier. *Preventive Veterinary Medicine* 2004; 65:47-62.

O'Leary C. *Salmonella* Dublin in Irish cattle. *Veterinary Ireland Journal* 2014; 4:21-25.

Pachón, D. Aislamiento, identificación y serotipificación de enterobacterias en una población de crocodylos intermedius y testudinos mantenidos en cautiverio en la estación de biología tropical Roberto franco. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, 2009.

Pardo.D., Oliver O. Identificación de agentes infecciosos asociados con Diarrea Neonatal Bovina en la Sabana de Bogotá. *Revista MVZ Córdoba*, 2012;(17):3162-3168.

Persson S, Jacobsen HN, Disen T, Hansen EP. A new realtime PCR method for the identification of *Salmonella* spp. *Journal Applied Microbiology* 2012; 5:10-15.

Quinn JP, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. Editorial Acirbia S.A. 2007; pp125-128.

Radostits OM, Gay CC, Hinchliff KW, Constable PD. *Veterinary Medicine: A text book of the disease of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*. 10th ed. Elsevier Ltd. 2007; pp325-326.

RapiD 20E (2007). *Système d'identification des Enterobacteriaceae en 4 heures*. IVD

Rodríguez D, Pino N, Peñuela G. Microbiological quality indicators in waters of dairy farms: Detection of pathogens by PRC in real time. *Science Of The Total Environmental* 2012; 427:314-318.

Rosenbaum L. Review of pathogenesis and diagnostic methods of immediate relevance for epidemiology and control of *Salmonella* Dublin in cattle. *Veterinary Microbiology* 2012; 162:1-9.

Santos RI, Tsolis RM, Bäumlér AJ, Adams LG. Pathogenesis of *Salmonella*-induced enteritis. *Brazilian Journal Of Medical And Biological Reserch* 2003; 36:3-12.

Sinton LW, Braithwaite RR, Hall CH, Mackenzie ML. Survival of indicator and pathogenic bacteria in bovine feces on pasture. *Applied Environmental Microbiology* 2007; 73:7917-7925.

Smith KE, Stenzel SA, Bender JB, wagstrom E, Soderlund D, Leano F. Outbreaks of enteric infections caused by multiple pathogens associated with calves at a farm day camp. *The Pediatric Infections* 2004; 23:1098-1104.

Snider J, Gull T, Jackson A, Martínez F, Picking DR. Experimental salmonellosis challenge model in older calves. *Veterinary Medicine* 2014; 77:284-303.

Stanchi O, Martino PE, Gentili E, Reinoso EH, Echeverría MG, Leardini NA, Copes JA. Microbiología veterinaria. Editorial Intermédica. 2007; 210-215.

Tadesse E, Ephrem E, Wondwossen AG, Asrat D, Alemayehu H, Medhin G, Jhonson RP, Gunn JS. Fecal prevalence, serotype distribution and antimicrobial resistance of *Salmonella* in dairy cattle in central Ethiopia. *BMC Microbiology* 2016; 16:20.

Tamamura Y, Ochida I, Kiyoshi L, Okazaki H, Makino S, Natsunami K. Molecular epidemiology of *S. Enterica* serovar Typhimurium isolates from cattle in Japan. *Applied and Environmental Microbiology* 2010; 25:45-62.

Upadhyay M. Salmonellosis in Cattle in a dairy farms. *Veterinary Medicine* 2014; 5:15-22.

Van E. The world problem of salmonellosis. 1ra edición. Editorial Springer. 2013; pp462-466.

Vanselow BA, Hum S, Hornitzky MA, Eamens GJ, Quinn K. *Salmonella* Typhimurium persistence in a Hunter Valley dairy herds. *Australian Veterinary Journal* 2007; 85:446-450.

Warnick LD, Nielsen LR, Nielsen M. Simulation model estimates of the accuracy and predictive values for the Danish *Salmonella* surveillance program in dairy herds. *Veterinary Medicine* 2006; 77:284-303.

Winn H, Allen, Janda, Koneman, Procop. Diagnóstico microbiológico. 6 edición. Editorial Médica Panamericana. 2013; pp204-2010.

Wood KM, Palmer SI, Steele MA, Metcalf JA, Penner GB. The influence of age and weaning on permeability of the gastrointestinal tract in Holstein bull calves. *Journal Dairy Science* 2015; 7226-7237.

Woolhouse MJ. Where do emerging pathogens come from understanding the origins of pathogens will help us to combat diseases. *Microbiology and Veterinary* 2006; 7:511-517.

Wongsuntoinpoj LS, Moreno A, Bergholz P, Wiedmann M, Chaturongakul S. Salmonella phages isolated from dairy farms in Thailand show wider host range than a comparable set of phages isolated from U.S dairy farms. *Veterinary Microbiology* 2014; 72:345-352.

Younis EE, Ahmed AM, Osman SA, El-Naker Y. Molecular screening and risk factors of enterotoxigenic Salmonella spp. in diarrheic neonatal calves in Egypt. *Veterinary Science* 2009; 87:373-379.

Youssef AL, Mahmoud M. Herd problems and occupations zoonoses of Salmonella Enterica serovars Typhimurium and Enteritidis infection in diarrheic cattle and buffalo calves in Egypt. *Human and Veterinary Medicine* 2012; 4:119-123.





## ANEXO N°2

### Identificación de microorganismos a partir de muestras de materia fecal de bovinos de los 2 hatos de la Sabana de Bogotá evaluados en el estudio

- **Primer y segundo muestreo Hato 1.**

Aislamiento bacteriano en medio Hecktoen y XLT4 del primer muestreo del hato 1.

Número de muestra	Microorganismos aislados
201	<i>E. coli</i>
202	<i>E. coli, Pseudomona</i>
203	<i>E. coli</i>
204	<i>E. coli, Klebsiella</i>
205	<i>E. coli, Pseudomona</i>
206	<i>E.coli</i>
207	<i>E. coli, Pseudomona</i>
208	<i>E. coli</i>
209	<i>E. coli, Pseudomona</i>
210	<i>E. coli</i>
211	<i>E. coli</i>
212	<i>E. coli</i>
213	<i>E. coli</i>
214	<i>E. coli, Pseudomona, Klebsiella</i>
215	<i>E. coli, Pseudomona</i>
216	<i>E. coli, Pseudomona</i>

- **Primer y segundo muestreo Hato 2**

Aislamiento bacteriano en medio Hecktoen y XLT4 del primer muestreo del hato 2.

Número de muestra	Microorganismos aislados
217	<i>E. coli</i>
218	<i>E. coli, Pseudomona</i>
219	<i>E. coli, Klebsiella</i>

220	<i>E. coli</i>
221	<i>E. coli, Klebsiella, Pseudomona</i>
222	<i>E. coli, Klebsiella</i>
223	<i>E. coli</i>
224	<i>E. coli, Klebsiella, Shigella</i>
225	<i>E. coli</i>
226	<i>E. coli, Klebsiella</i>
227	<i>E. coli</i>
228	<i>E. coli</i>
229	<i>E. coli, Klebsiella</i>
230	<i>E. coli, Klebsiella</i>
231	<i>E. coli, Pseudomona, Klebsiella</i>
232	<i>E. coli, Pseudomona</i>
233	<i>E. coli, Klebsiella</i>
234	<i>E. coli, Citrobacter cloaceae</i>
235	<i>E. coli, Proteus vulgaris</i>
236	<i>E. coli</i>
237	<i>E. coli</i>
237	<i>E. coli</i>
238	<i>E. coli, Klebsiella</i>
239	<i>E. coli, Klebsiella</i>
240	<i>E. coli, Pseudomona, Klebsiella</i>
241	<i>E. coli, Pseudomona</i>
242	<i>E. coli, Pseudomona</i>
243	<i>E. coli, Klebsiella</i>
244	<i>E. coli, Klebsiella</i>
245	<i>E. coli, Klebsiella</i>
246	<i>E. coli, Klebsiella</i>
247	<i>E. coli, Citrobacter cloacae</i>
248	<i>E. coli, Klebsiella</i>
249	<i>E. coli, Pseudomona</i>
250	<i>E. coli, Serratia marcescens</i>
251	<i>E. coli, Pseudomona</i>

252	<i>E. coli, Klebsiella</i>
253	<i>E. coli, Pseudomona</i>
254	<i>E. coli, Citrobacter cloacae</i>
255	<i>E. coli, E. coli, Citrobacter cloacae, Klebsiella</i>
256	<i>E. coli, Klebsiella, Enterobacter aerogenes</i>
257	<i>E. coli, Klebsiella</i>
258	<i>E. coli, Pseudomona</i>
259	<i>E. coli, Pseudomona, Klebsiella</i>
260	<i>E. coli, Klebsiella, Citrobacter cloacae</i>
261	<i>E. coli</i>
262	<i>E. coli</i>
263	<i>E. coli</i>
264	<i>E. coli, Klebsiella, Pseudomona</i>
265	<i>E. coli, Citrobacter cloacae</i>
266	<i>E. coli</i>
267	<i>E. coli, Pseudomona</i>
268	<i>E. coli</i>
269	<i>E. coli, Pseudomona, Klebsiella</i>
270	<i>E. coli, Pseudomona</i>
271	<i>E. coli, Klebsiella</i>
272	<i>E. coli, Pseudomona</i>
273	<i>E. coli, Klebsiella</i>
274	<i>E. coli, Pseudomona</i>
275	<i>E. coli, Hafnia alvei</i>
276	<i>E. coli, Proteus vulgaris</i>
277	<i>E.coli, Citrobacter cloacae</i>
278	<i>E.coli, Pseudomona</i>
279	<i>E.coli</i>
280	<i>E.coli, Pseudomona</i>