

Identificación, serotipificación y determinación del perfil de sensibilidad de *Salmonella enterica* aisladas de cloacas de tortugas de orejas rojas (*Trachemys* sp) en cautiverio, Perú

Identification, serotyping and determination of the sensitivity profile of *Salmonella enterica* isolated from cloacae of red-eared slider turtles (*Trachemys* sp) in captivity, Peru

Dante Meza R.¹; Siever Morales-Cauti^{1,2,3}

RESUMEN

El presente estudio tuvo por objetivo identificar, serotipificar y determinar el perfil de sensibilidad de cepas de *Salmonella enterica* aisladas de tortugas de orejas rojas (*Trachemys* sp) provenientes de dos centros de crianza en Lima, Perú, a través de hisopados cloacales. Las muestras se aislaron por medio del caldo de enriquecimiento tetrionato, medios específicos como agar *Salmonella*-*Shigella* y agar xilosa lisina desoxicolato. La identificación se hizo mediante pruebas bioquímicas. La serotipificación a través del reconocimiento de antígenos somáticos (O) y flagelares (H) del sistema Kauffmann-White, y la determinación de la sensibilidad por medio de la prueba de disco difusión Kirby Bauer. Se obtuvo un 6.1% (4/66) de aislados de *Salmonella enterica*, identificándose los serotipos *Salmonella* Saintpaul y *Salmonella* Infantis. Las pruebas de sensibilidad a antibacterianos indicaron diferencias entre cepas, mostrando 100% de sensibilidad frente al ácido nalidíxico, norfloxacina y enrofloxacina y menor a estreptomycin, sulfametoxazol + trimetropin, cloranfenicol y amoxicilina + ácido clavulánico. Los resultados muestran el potencial riesgo para la salud pública que implica la crianza de estas tortugas como potenciales mascotas.

Palabras clave: *Salmonella enterica*, *Trachemys* sp, serotipificación, Infantis, Saintpaul

¹ Laboratorio de Microbiología, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú

² Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

³ E mail: sieverm@hotmail.com

Recibido: 24 de mayo de 2019

Aceptado para publicación: 15 de abril de 2020

Publicado: 25 de noviembre de 2020

ABSTRACT

The aim of this study was to identify, serotype and determine the sensitivity profile of *Salmonella enterica* strains isolated from red-eared slider turtles (*Trachemys* sp) from two breeding centres in Lima, Peru, through cloacal swabs. The samples were isolated using tetrathionate enrichment broth, specific media such as Salmonella-Shigella agar and xylose lysine deoxycholate agar. The identification was made through biochemical tests. Serotyping through the recognition of somatic (O) and flagellar (H) antigens of the Kauffmann-White system, and the determination of sensitivity using the Kirby Bauer diffusion disk test. The results showed that 6.1% (4/66) of *Salmonella enterica* isolates were obtained, identifying the serotypes *Salmonella* Saintpaul and *Salmonella* Infantis. Antibacterial sensitivity tests indicated differences between strains, showing 100% sensitivity against nalidixic acid, norfloxacin and enrofloxacin and less for streptomycin, sulfamethoxazole + trimethoprim, chloramphenicol and amoxicillin + clavulanic acid. The results show the potential risk to public health involved in raising these turtles as potential pets.

Key words: *Salmonella enterica*, *Trachemys* sp, serotyping, Infantis, Saintpaul

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es una enfermedad infecciosa del hombre y los animales causada por microorganismos de dos especies de *Salmonella* (*S. enterica* y *S. bongori*) (Gawade y Ghosh, 2018; OIE, 2019), de la familia Enterobacteriaceae, y se caracterizan por ser bacilos gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos (Du-San *et al.*, 2016). Entre sus estructuras antigénicas más importantes se encuentran el antígeno somático (O), que son cadenas laterales del lipopolisacárido (LPS) (Kiflu *et al.*, 2017), el antígeno flagelar (H), el cual es una estructura compleja que consiste en un cuerpo basal, un segmento de unión («hook») y un filamento constituido por flagelina, y el antígeno capsular (Vi) (Kiflu *et al.*, 2017). Estas estructuras permiten caracterizar a los serotipos de este género bacteriano.

Los reptiles silvestres y algunas mascotas, especialmente las tortugas, son conocidos por ser portadores asintomáticos de algunos serotipos de *Salmonella* (Nakadai *et al.*, 2005; Basler *et al.*, 2015; Bosch *et al.*,

2016; Du-San *et al.*, 2016), capaces de infectar al humano, ocasionando cuadros que cursan desde una gastroenteritis moderada hasta complicaciones severas como septicemia o meningitis, particularmente en infantes, ancianos o personas inmunosuprimidas (Basler *et al.*, 2015; Bosch *et al.*, 2016).

Las tortugas del género *Trachemys* pertenecen al orden Testudines. Se les conoce como galápagos de Florida o tortugas de orejas rojas. Existen pocos estudios sobre enfermedades en esta especie, y se centran fundamentalmente en *Salmonella*, agente patógeno que más los afecta. Las infecciones por *Salmonella enterica* constituyen un problema de salud animal y pública (Basler *et al.*, 2015; Du-San *et al.*, 2016), y entre los serotipos aislados en reptiles se pueden nombrar a *S. Arizonae* en México, *S. Paratyphi B* en Japón, *S. Newport*, *S. Arizonae* y *S. Enteritidis* en EEUU y *S. Javiana* en Perú, entre otros (Nakadai *et al.*, 2005; Pachón, 2009; Campos *et al.*, 2020; Bosch *et al.*, 2016).

Las pruebas de sensibilidad deben realizarse siempre sobre microorganismos asociados a infecciones, ya que estos pueden

presentar mecanismos de defensa frente a agentes antimicrobianos como la producción de enzimas inactivantes, alteraciones en el sitio de blanco acción y modificaciones en el ingreso o el eflujo de las drogas (Quesada *et al.*, 2016). En el caso particular de *Salmonella* spp se ha descrito la presencia de una isla genómica que le brinda resistencia frente a todos los antibióticos útiles para su tratamiento (Mitchell y Shane, 2001). El presente estudio tuvo como objetivo determinar los serotipos y el perfil de sensibilidad de cepas de *Salmonella* Enterica aisladas de tortugas de orejas rojas (*Trachemys* sp) provenientes de dos centros de crianza en Lima, Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

La investigación se llevó a cabo en el Parque Zoológico Huachipa, con una temperatura promedio de 24 °C y humedad de 78%, y en el Colegio La Inmaculada, el cual presenta una temperatura promedio de 22 °C y humedad de 88%, ambos en Lima, Perú. Las dos instituciones son centros de crianza de animales silvestres, entre los que destacan las tortugas *Trachemys* sp.

Población y Muestra

El estudio se desarrolló con 51 animales del Parque Zoológico, los cuales se encontraban distribuidos en tres ambientes, de acuerdo con el tamaño de los ejemplares, y con 15 animales del Colegio de la Inmaculada que eran criados en un solo ambiente. Todos los animales se encontraban en aparente buen estado de salud.

Aislamiento de *Salmonella* (OIE, 2019)

Toma de muestras: Se colectaron muestras de la cloaca con un hisopo. Las muestras fueron conservadas en un medio de transporte bacteriano Stuart (Merck), y transportado a temperatura de refrigeración (4 °C) al laboratorio.

Enriquecimiento selectivo: Se realizó en dos tiempos. Primero, la muestra se inoculó en caldo Tetracionato incubándose a 41 °C por 24 horas, para luego sembrarse en agares específicos. En el segundo enriquecimiento, el caldo Tetracionato remanente del primer enriquecimiento se mantuvo a temperatura ambiente por 5 días, luego de lo cual se extrajo 1 ml de cada suspensión y se inoculó en un nuevo tubo con caldo Tetracionato para incubarse a 37 °C por 24 horas. Las muestras fueron luego sembradas en agares específicos (Mitchell y Shane, 2001).

Siembra en placas: Se tomó una muestra de los caldos de enriquecimiento con un ansa de siembra y la siembra se hizo por agotamiento en medios sólidos específicos: agar *Salmonella-Shigella* (SS) y agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD). Las colonias características se utilizaron para realizar las pruebas bioquímicas correspondientes.

Identificación Bioquímica

Las colonias resultantes fueron teñidas con Gram. Las bacterias bacilares gramnegativas fueron sometidas a pruebas bioquímicas, considerándose positivas a *Salmonella enterica* si cumplían los siguientes requisitos: positivo al uso del citrato, capaz de fermentar la glucosa produciendo gas, genera H₂S a partir del tiosulfato, presenta flagelos que le brindan movilidad y posee las enzimas catalasa y lisina descarboxilasa; sin embargo, no fermenta lactosa, ni sacarosa y carece de las enzimas triptofanasa, ureasa y citocromo oxidasa.

Serotipificación de *Salmonella enterica*

Se realizó en el laboratorio de investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, y está basada en la determinación de los antígenos O (somáticos) y H (flagelares), siguiendo el esquema de Kauffmann-White (Marin *et al.*, 2016; Kiflu *et al.*, 2017).

Serotipificación somática: La caracterización del serogrupo O de *Salmonella* spp se desarrolló en lámina, a partir de cultivos frescos (24 horas en agar tripticosa de soya, incubado a 37 °C). Previamente se verificó que el cultivo se encuentre en forma lisa, por ausencia de aglutinación con solución salina al 2% en una lámina. En una lámina portaobjetos se enfrentó una pequeña cantidad del cultivo con una gota de los antisueros polivalentes OS-A y OS-B (contienen cerca del 98% de las serovariedades aisladas del hombre y de los animales). Estos antisueros polivalentes cumplen la función de una primera selección de serogrupos. La lectura se realizó con el uso de una luz indirecta, observándose la aglutinación respectiva. En los casos positivos de aglutinación con alguno de los antisueros polivalentes, se probaron los antisueros de grupo O correspondiente hasta encontrar la aglutinación específica.

Serotipificación flagelar. La caracterización antigénica flagelar se hizo a partir de un cultivo en 5 ml de caldo flagelar incubado a 37 °C durante 24 horas. Al caldo flagelar se le agregó 5 ml de solución fisiológica fenolada al 1%. En cuatro tubos de ensayo se colocó una gota de cada uno de los antisueros flagelares polivalentes (HS-1, HS-A, HS-B y HS-C) y se agregó 0.5 ml del caldo fenolado. Se incubó por 1 hora a 50 °C en baño de maría. Finalmente se observó la presencia o ausencia de aglutinación con luz indirecta.

En el caso de aglutinación positiva con dos antisueros polivalentes se trata de una serovariedad difásica (la gran mayoría) y se debe enfrentar con los antisueros de fase H correspondientes. Si el antisuero de fase flagelar está compuesto por más de un factor, se debe determinar el factor H correspondiente (antisueros de factores H, H:h y H:2).

En el caso de aglutinación positiva con un solo antisuero polivalente flagelar, podría tratarse de una serovariedad monofásica, o

que sea una serovariedad difásica, y se expresa únicamente una sola fase H. Por lo tanto, es necesario poner en evidencia la fase no detectable, usando el «Método de inversión de fase», que consiste en inmovilizar la fase flagelar expresada mediante el agregado del antisuero de fase correspondiente, para permitir la expresión de la otra fase flagelar.

Susceptibilidad Antibacteriana

Se realizó según el método de Kirby Bauer. Las cepas aisladas fueron suspendidas en solución salina fisiológica ajustándolas a una turbidez de 0.5 del estándar de McFarland. Posteriormente fueron sembradas en placas de agar Muller Hinton (Merck) y se confrontaron a nueve discos de antibacterianos: Ampicilina (10 µg), Cloranfenicol (30 µg), Sulfa Trimetoprim (25 µg), Estreptomomicina (10 µg), Amoxicilina/Ácido clavulánico (20/10 µg), Ácido nalidíxico (30 µg), Norfloxacin (5 µg), Enrofloxacin (5 µg) y Penicilina (10 U) (Oxoid). Los antibacterianos utilizados han sido reportados en el tratamiento de *Salmonella enterica* por el Instituto Nacional de Salud (INS, 2002). Las placas se incubaron a 37 °C por 18 horas y la interpretación se realizó en base al halo de inhibición. Se clasificaron como sensibles, intermedias o resistentes según los valores descritos por la guía del Instituto de Estándares Clínicos y Laboratorio (CLSI, 2005)

RESULTADOS

Se muestrearon 66 animales, 15 provenientes del Zoológico del Colegio de la Inmaculada (ZCI) y 51 del Parque Zoológico Huachipa (PZH) obteniéndose cuatro cepas positivas a *Salmonella enterica* (Cuadro 1).

Se utilizaron dos métodos de enriquecimiento (estándar y tardío), siendo ambos enriquecidos en caldos selectivos (selenito y

Cuadro 1. Frecuencia de aislamiento de *Salmonella enterica* en tortugas de orejas rojas (*Trachemys* sp) en dos centros de cautiverio (n=66) en Lima, Perú

Procedencia	Sexo	Muestreados (n)	Positivos		
			n	Por zona (%)	Total (%)
Zoológico del Colegio de la Inmaculada	Hembra	9	1	13.3	6.1
	Macho	6	1		
Parque Zoológico Huachipa	Hembra	33	2	3.9	
	Macho	18	0		

tetracionato). Los cuatro resultados positivos a *Salmonella enterica* fueron aislados del caldo tetracionato; sin embargo, dos de ellos se obtuvieron utilizando el método estándar y los otros dos utilizando el método de enriquecimiento tardío.

La serotipificación de las cepas indicó que pertenecían a serovariedades diferentes; las procedentes del Colegio de la Inmaculada eran *S. Infantis* (O 6, 7 r: 1, 5), mientras que las aisladas del Parque Zoológico Huachipa eran *S. Saintpaul* (O 4, 12 e, h: 1, 2).

La prueba de sensibilidad a antibacterianos indicó que las dos cepas de *S. Saintpaul* eran resistentes únicamente a penicilina y sensibles a los demás antibacterianos, mientras que las cepas *S. Infantis* resultaron resistentes a cloramfenicol, amoxicilina/ácido clavulánico, ampicilina y penicilina, y sensibles a ácido nalidixico, norfloxacin, y enrofloxacin. Así mismo, una cepa de este serovar fue resistente a estreptomycin y sulfatrimetroprim y la otra fue sensible.

DISCUSIÓN

El presente estudio reporta que 6.1% (4/66) de las tortugas muestreadas resultaron positivas a *Salmonella enterica* a nivel

de la cloaca (Cuadro 1), siendo este resultado diferente a los múltiples reportes en reptiles y otros animales, donde se encuentran frecuencias de hasta 74% de aislamiento en muestras clínicas (Sá y Solari, 2001; Nakadai *et al.*, 2005; Sealing *et al.*, 2006; Toledo, 2009; Pachón, 2009; Villena *et al.*, 2010; Matsuura *et al.*, 2010; Morales *et al.*, 2012; Campos *et al.*, 2020; Espinoza y Morales-Cauti, 2019; Salazar *et al.*, 2019); variaciones que pueden ser debidas a la procedencia y estado de los animales. Sá y Solari (2001) y de Nakadai *et al.* (2005), reportaron prevalencias elevadas al trabajar con animales cuyas condiciones de crianza eran deficientes, mientras que Toledo (2009), Pachón (2009) y Campos *et al.* (2020) obtuvieron prevalencias relativamente bajas ya que los animales evaluados procedían de tiendas y parques de conservación con ambientes adecuados.

La presencia de esta bacteria en la cloaca de las tortugas se debe a excreción activa o por contacto de agua contaminada, debido a que estos animales comparten el ambiente con otras tortugas, convirtiéndose en portadores asintomáticos de *Salmonella enterica* (Morales *et al.*, 2012; Basler *et al.*, 2015; Kiflu *et al.*, 2017; Salazar *et al.*, 2019). Este contacto podría afectar a otros animales por la contaminación del medio ambiente (Dusan *et al.*, 2016), y desarrollar la condición de portadores (Basler *et al.*, 2015; Espinoza y Morales-Cauti, 2019).

Para este estudio se utilizaron dos caldos de enriquecimiento (Selenito y Tetracionato), y además se realizó un enriquecimiento estándar y otro tardío, buscando incrementar la tasa de recuperación de esta bacteria (Mitchell y Shane, 2001; Espinoza y Morales-Cauti, 2019). Existe evidencia de este procedimiento de aislamiento como el reporte de Waltman *et al.* (1991) quienes lograron un incremento de 64%. Para el presente estudio, se logró aislar dos cepas de salmonelas adicionales a los aislados con el método tradicional, incrementándose así en un 100% el aislamiento convencional. Esto permite corroborar la utilidad de este método (Espinoza y Morales-Cauti, 2019), tanto para trabajos de investigación como para la vigilancia de las infecciones por *Salmonella*.

Este estudio reporta serotipos de *Salmonella enterica* que se encuentran frecuentemente en animales homeotermos, y que son causantes de la mayoría de casos de salmonelosis (Mitchell y Shane, 2001; Matsuura *et al.*, 2010; Kiflu *et al.*, 2017). Sin embargo, los serovares reportados en los animales poiquilotermos han sido aislados desde pacientes con salmonelosis asociada a reptiles (Sá y Solari, 2001; Du-San *et al.*, 2016; Kiflu *et al.*, 2017; Salazar *et al.*, 2019), y cuyas características bioquímicas muestran diferencias; por lo tanto en este estudio es posible que hubiera un mayor número de muestras cloacales positivas a estos serovares.

El presente estudio reporta dos serotipos (*Infantis* y *SainPaul*); lo cual difiere con hallazgos reportados por otros autores, donde sus aislamientos son múltiples y variados: *S. Albany*, *S. Enteritidis*, *S. Montevideo*, *S. Newport*, *S. Typhimurium*, *S. Arizonae*, *S. Selby*, *S. Bere*, *S. Shamba*, *S. Pomona*, *S. Poona*, *S. Arizona* y *S. Javiana*, entre otros (Sá y Solari, 2001; Mitchell y Shane, 2001; Nakadai *et al.*, 2001; Pachón, 2009; Campos *et al.*, 2020; Bosch *et al.*, 2016; Marin *et al.*,

2016; Salazar *et al.*, 2019). Esta amplia variedad se debe a la naturaleza del género *Salmonella*, y a características medio ambientales relacionadas a las especies en estudio como procedencia de los animales, hábitat, densidad y altitud, entre otros factores (Basler *et al.*, 2015; Marin *et al.*, 2016). Estos aislados suelen representar un riesgo para la salud pública, como se corrobora con brotes ocurridos en Estados Unidos de *S. Saintpaul* en 2013 y *S. Infantis* en 2012, 2015 y 2017 (OIE, 2019; CDC, 2013; Kiflu *et al.*, 2017).

El tratamiento de los reptiles positivos a *Salmonella* es controversial, ya que los antibacterianos pueden afectar la microbiota y suprimir la detección de la bacteria en las heces, lo cual favorecería su persistencia a nivel intestinal e incrementaría la aparición de cepas resistentes (OIE, 2019). Se ha reportado el uso de antibacterianos como ampicilina, amoxicilina, sulfametoxazol + trimetropin, cloranfenicol, fluorquinolonas y cefalosporinas de tercera generación (Matsuura *et al.*, 2010; Sacsquispe y Velásquez 2002; OIE, 2019), siendo estreptomycin y sulfa + trimetropin la alternativa de uso terapéutico por la susceptibilidad mostrada.

Finalmente, los reptiles aparentemente sanos y adaptados raramente sufren esta enfermedad, por lo que el riesgo de transmisión hacia las personas puede ser bajo, pero potencialmente presente de forma directa o indirecta. Es por eso que para evitar la propagación de esta bacteria, y dado que los reptiles pueden ser portadores, es imprescindible mantenerlos en condiciones fisiológicas óptimas (Basler *et al.*, 2015; Marin *et al.*, 2016; Kiflu *et al.*, 2017), y evitar el contacto a partir del tráfico ilegal. Asimismo, se debe replantear la estrategia de control de este problema de salud pública de larga data, utilizando un enfoque de «Una Salud» (Bosch *et al.*, 2016).

CONCLUSIONES

- Se aisló e identificó cepas de *S. enterica* Infantis (O6,7:r:1,5) y *S. enterica* SaintPaul (O4,12:e,h:1,2) de dos centros de crianza de tortugas de orejas rojas (*Trachemys* sp), siendo este el primer hallazgo en el país.
- El enriquecimiento tardío aumenta los niveles de aislamiento de cepas de *Salmonella enterica* a partir de muestras clínicas de tortugas.
- *S. SaintPaul* fue sensible a la mayoría de los antibióticos evaluados, mientras que *S. Infantis* fue sensible a tres de los siete antibióticos trabajados.

LITERATURA CITADA

1. **Basler C, Bottichio L, Higa J, Prado B, Wong M, Bosch S. 2015.** Multistate outbreak of human *Salmonella* Poona infections associated with pet turtle exposure—United States, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 64: 804. doi: 10.15585/mmwr.mm6429a7
2. **Bosch S, Tauxe RV, Barton BC. 2016.** Turtle-associated salmonellosis, United States, 2006–2014. *Emerg Infect Dis* 22: 1149-1155. doi: 10.3201/eid2207.150685
3. **Campos A, Morales-Cauti, S, Navarro A., Eslava C. 2020.** Detección de *Salmonella* Javiana en tortugas taricaya (*Podocnemis unifilis*) en dos parques zoológicos del Perú. *Rev Inv Vet Perú* 31: e17554. doi: 10.15381/rivep.v31i1.17554
4. **[CDC] Centers for Disease Control and Prevention. 2013.** Multistate outbreak of *Salmonella Saintpaul* infections linked to imported cucumbers. [Internet]. Available in: <https://www.cdc.gov/salmonella/saintpaul-04-13/index.html>
5. **[CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005.** [Internet]. Available in: https://infostore.saiglobal.com/en-us/Standards/CLSI-M45-P-1ED-2005-357801_SAIG_CLSI_-CLSI_814931/
6. **Du-San B, Gee-Wook S, Mitchell W, Gang-Joon H. 2016.** Prevalence of *Salmonella* spp in pet turtles and their environment. *Lab Anim Res* 32: 166-170. doi: 10.5625/lar.2016.32.3.166
7. **Espinoza RK, Morales-Cauti, S. 2019.** *Salmonella* spp en aves silvestres que habitan alrededor de una granja de cuyes tecnificada en el distrito de Manchay, Lima. *Rev Inv Vet Perú* 30: 423-429. doi: 10.15381/rivep.v30i1.15698
8. **Gawade P, Ghosh P. 2018.** Genomics driven approach for identification of novel therapeutic targets in *Salmonella enterica*. *Gene* 668: 211-220. doi: 10.1016/j.gene.2018.05.058
9. **[INS] Instituto Nacional de Salud. 2002.** Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima. Serie de Normas Técnicas N.º 30. 67 p. [Internet]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
10. **Kiflu B, Alemayehu H, Abdurahaman M, Negash Y, Eguale T. 2017.** *Salmonella* serotypes and their antimicrobial susceptibility in apparently healthy dogs in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Vet Res* 13: 134. doi: 10.1186/s12917-017-1055-y
11. **Mitchell M, Shane S. 2001.** *Salmonella* in reptiles. *J Exot Pet Med* 10: 25-35.
12. **Marin C, Vega S, Marco-Jiménez F. 2016.** Tiny turtles purchased at pet stores are a potential high risk for *Salmonella* human infection in the Valencian region, eastern Spain. *Vector Borne Zoonotic Dis* 16: 455-460. doi: 10.1089/vbz.-2016.1950
13. **Matsuura A, Morales S, Calle S, Ara M. 2010.** Susceptibilidad a antibacterianos *in vitro* de *Salmonella enterica* aislada de cuyes de crianza familiar-comercial en la provincia de Carhuaz,

- Ancash. Rev Inv Vet Peru 21: 93-99. doi: 10.15381/rivep.v21i1.355
14. **Morales S, Silva W, Rojas G 2012.** Flora bacteriana normal de la cavidad oral de boas mantenidas en cautiverio en Lima-Perú. Científica 9: 2020-2024.
 15. **Nakadai A, Kuroki T, Kato Y, Suzuki R, Yamai S, Yaginuma C. et al. 2005.** Prevalence of *Salmonella* spp in pet reptiles in Japan. J Vet Med Sci 67: 97-101. doi: 10.1292/jvms.67.97
 16. **[OIE] World Organisation for Animal Health. 2019.** Salmonellosis. En: Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres. [Internet]. Disponible en: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.09.08_-SALMONELLOSIS.pdf
 17. **Pachón D. 2009.** Aislamiento, identificación y serotipificación de enterobacterias del género *Salmonella* en una población de *Crocodylus intermedius* y testudinos mantenidos en cautiverio en la estación de biología tropical Roberto Franco E.B.T.R.B. de la Facultad de Ciencias. Tesis de Microbiólogo Agrícola Veterinario. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. 115 p.
 18. **Quesada A, Reginatto G, Ruiz A, Colantonio L, Burrone M. 2016.** Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. Rev Peru Med Exp Salud Pública 33: 32-44. doi: 10.17843/rpmesp.2016.331.1899
 19. **Sá I, Solari C. 2001.** *Salmonella* in Brazilian and imported pet reptiles. Braz J Microbiol 32: 293-297. doi: 10.1590/S1517-83822001000400007
 20. **Sacsquispe Contreras R, Velásquez Pomar, J. 2002.** Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Instituto Nacional de Salud. 68 p.
 21. **Salazar GA, Guerrero-López R, Lalaleo L, Avilés-Esquivel D, Vinuesa-Burgos C, Calero-Cáceres W. 2019.** Presence and diversity of *Salmonella* isolated from layer farms in central Ecuador. F1000Res 8: 235. doi: 10.12688/f1000research.18233.2
 22. **Sealinger C, Lewbart G, Christian L, Lemons C. 2006.** Prevalence of *Salmonella* spp in cloacal, fecal, and gastrointestinal mucosal samples from wild North American turtles, J Am Vet Med Assoc 229: 266-268. doi: 10.2460/javma.229.2.266
 23. **Toledo F. 2009.** Detección de *Salmonella* spp en tortugas de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*) en la ciudad de Valdivia. Tesis de Médico Veterinario. Valdivia, Chile: Univ. Austral de Chile. 36 p.
 24. **Villena M, Morales S, Soto J, Enciso M. 2010.** Flora bacteriana del tracto digestivo de caracoles *Helix aspersa müller* bajo dos sistemas de crianza. Rev Inv Vet Perú 21: 100-105. doi: 10.15381/rivep.v21i1.358
 25. **Waltman WD, Horne AM, Pirkle C, Dickson TG. 1991.** Use of delayed secondary enrichment for the isolation of *Salmonella* in poultry and poultry environments. Avian Dis 35: 88-92.