

93
2ej



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"**

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE CEPAS DE Salmonella
gallinarum POR METODOS BIOQUIMICOS AISLADAS EN EL
AREA DE INFLUENCIA DEL LABORATORIO DEL CENTRO DE
SALUD ANIMAL DE CALAMANDA, QRO. (DE 1980 A 1985).**

T E S I S

Que para obtener el Título de
Médico Veterinario Zootecnista
p r e s e n t a:

JOSE RESENDIZ MORALES



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	Pág.
RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
OBJETIVOS	10
MATERIAL Y METODOS	11
RESULTADOS	18
DISCUSION	53
COMENTARIOS	56
CONCLUSIONES	57
BIBLIOGRAFIA	58

Resumen

El presente trabajo, se realizó en el Laboratorio de diagnóstico del Centro de Salud Animal de Calamanda, Qro. ubicado en el Km. 186.8 de la Autopista México-Querétaro

El objeto del trabajo fue el de estandarizar una tabla para la identificación y tipificación por métodos bioquímicos, de S. gallinarum en México, comparando los resultados con los de otros autores, poniendo especial énfasis - en el uso de carbohidratos. Esta bacteria es el agente - causal de la Tifoidea aviar y afecta con frecuencia a las aves, siendo la 3a. enfermedad en importancia en el Edo. de Querétaro.

Los aislamientos de S. gallinarum se realizaron a partir de vísceras de aves sospechosas. Se sembraron en diferentes medios de cultivo que fueron; MacConkey (Mc), Ver de Brillante (VB), Agar infusión de corazón (HIA), (medios sólidos) y Caldo Selenite (Sel), Caldo Tetrionato (TT), y Caldo infusión de corazón (BHI). (Medios líquidos) y se incubaron 24 horas, al término de las cuales, si el cultivo era puro, se efectuó la bioquímica; si no, se purifica el cultivo (subcultivo). Para la bioquímica se utilizaron: medio Triple azúcar hierro (TSI) y/o Agar hierro de Kligler (Kl), medio de SIM, urea, citrato de Simmons, Caldo base rojo de Metilo - Voges Proskauer (MR-VP), Caldo base Lisina descarboxilasa (LD), Caldo base Arginina deshidrolasa (AD), además de 20 azúcares.

En el cuadro 15 se muestra el resumen de las reacciones bioquímicas de 242 cepas de S. gallinarum que se trabajaron en un período de 6 años de 1980 a 1985. Se pue-

de notar que hay una pequeña producción de gas, tanto en TSI como en algunos azúcares, en varias de las cepas que se trabajaron.

Se utilizó un cuadro base de referencia, obtenido de varios autores (Carter, Cowan, Merchant y otros), para la identificación bioquímica de S. gallinarum, el cual se comparó con el cuadro general obtenido en este estudio. Las diferencias más marcadas entre los dos cuadros, son que en el cuadro de referencia la dextrina y xilosa son fermentadas regularmente; y en el cuadro que se obtuvo - no son fermentadas.

Se observó que S. gallinarum tuvo una ligera variación en su comportamiento bioquímico durante los años - que involucró el presente estudio (1980 1985).

Aunque puede haber una variación muy amplia en las - pruebas de TSI, SIM, y citrato que mencionamos en otros cuadros de este trabajo, en el cuadro 19 se presenta un modelo de las reacciones que más comunmente encontramos en S. gallinarum. Mismas que se proponen como cuadro base general para la tipificación bioquímica.

En el cuadro 17 se muestra una tabla con reacciones - bioquímicas que se obtuvieron en forma individual y que en relación al cuadro 19 tiene algunas ligeras diferencias.

Por último se propone que azúcares como la rafinosa, - levulosa, inulina, melobiosa y dextransa que no son utilizados comunmente en la identificación de S. gallinarum, - sean incluidos en una bioquímica rutinaria dado que presentan una variabilidad muy escasa. (cuadro 20).

Introducción

La clasificación taxonómica de las bacterias, ha sufrido constantes modificaciones al surgir diferencias significativas entre organismos que eran considerados dentro de un mismo reino. Haeckel (1866) propuso el reino Protista el cual fue ignorado durante mucho tiempo, fue Stanier (1957) el que revivió el término Protista distinguiendo dos subgrupos; protistas inferiores ó procariotas (bacterias y algas azules) y los protistas superiores ó eucariotas (protozoarios y la mayor parte de las algas), sin embargo, Whittaker (1969) propuso un sistema de cinco reinos, clasificando a las bacterias en el reino Monera. Según la 8va. edición del Bergey's Manual of Determinative Bacteriology acepta el reino Monera de Whittaker, pero le ha cambiado el nombre a Procaryotae el cual consiste en dos divisiones; división 1: las cianobacterias (algas - azul verdosas) y la división 2: Schizomycetos (bacterias) (3, 7, 21 y 24).

La Salmonella es una bacteria que esta relacionada fisiológicamente y morfológicamente a la familia de las Enterobacteriaceas, por lo general es móvil, sin embargo - hay formas inmóviles, esta última es la que con más frecuencia causa estragos a la avicultura (19, 25).

El primer aislamiento del género Salmonella lo realizó Smith y Salmon en 1885 de un cerdo que había muerto de Cólera porcino (19, 25).

Klein fué quién primero aislo a S. gallinarum en 1889 en Inglaterra de aves enfermas de Tifosis aviar (19).

La S. gallinarum es un bacilo corto, gram (-), mide

0'4 - 0'6 μ de ancho por 0'8 - 0'6 μ de largo. No tiene flagelos no forma espora ni cápsula (20, 25).

S. gallinarum y S. pullorum tienen una estructura anti génica similar y de este género son las únicas especies que son inmóviles (25).

Normalmente las colonias del género Salmonella tienen una apariencia lisa, pero ha sido demostrado que las formas lisas (L), pueden transformarse en rugosas (R), por un manejo inadecuado de las formas (L), por el empleo de bacteriófagos, radiaciones ultravioleta, exposición a luz ultravioleta ó subcultivo en suero hiperinmune (11, 20).

Las formas rugosas: no poseen los azúcares específicos presentes en los antígenos "O" de las formas lisas. Además de que poseen la característica de precipitar en medios - líquidos y el sobrenadante quedar claro (20).

Las colonias lisas, permanecen en suspensión, no aglutinan con solución de acriflavina. Además de poseer caracteres morfológicos diferentes, ya que las colonias rugosas con frecuencia tienen una forma plana, son opacas de apariencia tosca, y presentan los bordes irregulares ó - "dentados" en contraste con la forma convexa, brillante - de apariencia fina y los bordes lisos y bien definidos de las cepas lisas (20).

Transmisión:

La transmisión de Salmonella a través del huevo hace que la bacteria se difunda rápida y continuamente entre las aves, las cuales sufren tres tipos de salmonelosis:

- a) Pulorosis
- b) Tifoidea aviar
- c) Paratifoidea aviar

En el caso de Tifoidea aviar el agente responsable es S. gallinarum, la cual se encuentra ampliamente diseminada no solamente en gallinas, sino también en pavos, patos, - palomas, codornices y otras aves silvestres (11, 13, 22).

Período de incubación:

El período de incubación varía de 4 - 6 días sin embargo la muerte puede ocurrir a las 48 horas siguientes a la infección, en brotes subagudos los síntomas duran 5 - 6 - días y la mortalidad es elevada (11, 12).

Signos clínicos y cambios patológicos.

En casos agudos la muerte súbita es el único indicio de que existe la enfermedad. Un número considerable de aves presentan diarrea fétida de color amarillento; hay pérdida de apetito y debilidad. El cuadro clínico en general es sugestivo de un proceso septicémico (11).

A la necropsia se observa hepatomegalia, hígado bronceado y puntos hemorrágicos, focos necróticos en hígado y corazón, además hay esplenomegalia con puntos hemorrágicos los pulmones están edematosos y congestionados. En ponedoras los ovarios presentan numerosos óvulos afectados, - conteniendo material sanguinolento, lento desarrollo y aspecto caseoso. Es común la existencia de portadores sanos, los cuales al recuperarse de la enfermedad continúan excretando gérmenes en sus deyecciones. La eliminación a través del huevo ocurre también con frecuencia. La gravedad de esta enfermedad radica en la marcada reducción en los porcentajes de postura, así como en la escasa fertilidad e incubabilidad del huevo (11, 12, 13).

Diagnóstico:

El diagnóstico rápido y preciso es esencial e incluye

los cultivos bacteriológicos para su aislamiento e identificación de la bacteria y las pruebas serológicas en sangre completa y también en suero son importantes (11, 22).

La técnica de campo para el diagnóstico de Salmonella en aves progenitoras, a través del sistema de aglutinación: consiste en extraer una gota de sangre del ala del ave para mezclarla con una gota de antígeno comercial y que ahora que ha iniciado la campaña nacional contra la Tifoidea aviar y Pulorosis aviar también se ha comenzado a elaborar en el Laboratorio oficial (PRONABIVE). Esta prueba define en menos de un minuto si el ave sometida a la prueba es positiva o sospechosa. De ser así en ambos casos se sacrifican, mandandose un 20% al Centro de Salud Animal correspondiente a su territorio para su análisis y proceder a los lineamientos oficiales que la dependencia estime conveniente (11).

Tratamiento:

Se ha mencionado una serie de drogas que tienen más ó menos eficacia en el tratamiento en las infecciones por Salmonella. La furazolidona puede ser inefectiva dado que algunas cepas de S. gallinarum han desarrollado resistencia y deberá ser administrada durante los primeros días de iniciado el brote y un período de 10 días (22). Estudios realizados en Querétaro "in vitro" utilizando 15 antimicrobianos encontraron que la neomicina es efectiva en un 92.8%, la furadantina en un 90.47% y la kanamicina y furazolidona resultaron efectivas en un 89.84% (23).

La efectividad de sulfas y antibioticos como cloranfenicol, penicilina, estreptomycin y tetraciclinas entre otros, ha sido investigada tanto "in vitro" como "in vivo"

encontrándose en la mayoría de los casos resultados poco alentadores; estas drogas lograron controlar el brote desde el punto de vista clínico, pero la mayoría de las aves desarrollan un estado de portadores sanos. Se ha reportado que la ampicilina es efectiva, pero la información no es muy confiable (11,22).

Tanto desde el punto de vista técnico como económico, es muy recomendable el practicar pruebas de sensibilidad a los antibioticos, sulfas y nitrofuranos, con las cepas aisladas en la granja problema, con el objeto de seleccionar en forma adecuada, la droga que muestre los mejores resultados (11).

Control:

Todas las parvadas de reproductoras deben estar sujetas a aglutinaciones en forma anual y rutinaria, para detectar la presencia de Tifoidea aviar (11).

Las reproductoras deben ser siempre enviadas al Laboratorio en donde son sacrificadas y utilizadas para obtener cultivos a fin de confirmar ó aclarar los diagnósticos dudosos. Si el diagnóstico resulta positivo, la parvada de reproductoras correspondiente debe ser también examinada. Todas las parvadas de reproductoras y progenitoras que resulten infectadas deben ser eliminadas del ciclo reproductivo - (11, 22).

Bajo ninguna circunstancia se admitirá que las aves vivas ó el equipo procedente de ellas ingresen a otras granjas ó casetas. Todo el equipo utilizado para transportar a estas aves debe ser desinfectado rigurosamente. Las instalaciones deben ser asimismo desinfectadas adecuadamente, antes de la repoblación y se debe disponer de la cama, transportarla en vehículos cubiertos no debiendola depositar cerca de otras instalaciones avícolas. Se -

debe poner especial cuidado de que todas las personas que han estado en contacto con estas parvadas ó materiales, - no diseminen la enfermedad, para lo cual es recomendable tomar muestras de las mismas para ver si no pudieran ser vehículos de contaminación (22).

Vacunación:

Se sabe que las aves que se recuperan de una infección natural, se vuelven completamente refractarias a la reinfección, lo que sugiere que las vacunas adecuadas podrían producir una sólida inmunidad. En base a esta información Smith en 1956 se abocó al estudio de diferentes vacunas vivas, logrando finalmente desarrollar la que actualmente se conoce como 9R de S. gallinarum, la cual se sometió a pases continuos en medios semisintéticos, incubada a 20°C., de esta forma se logró la atenuación del germen. Al tratarse con un bacteriófago, fue posible alterar la pared celular de esta bacteria, obteniéndose entonces colonias rugosas, lo que le da el nombre de 9R (11).

Esta vacuna confiere una sólida inmunidad protegiendo del 70 al 100% de las aves vacunadas, contra el desafío experimental con dosis capaces de matar a más del 90% de controles no vacunados. La inmunidad que se produce a consecuencia de la vacunación, persiste durante toda la vida de las aves (11).

La vacunación con 9R da mayor resultado aplicandola a las 8 semanas de vida con revacunación opcional 4 semanas más tarde. La vacunación en parvadas que estan infectadas está contraindicada pues solo se logra incrementar la severidad del brote (11, 22).

La inmunización de aves reproductoras solo esta indicada en zonas enzoóticas, con altos porcentajes de prevalencia (11).

La vacuna 9R se produce en México desde 1967 en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (INIP), habiéndose empleado tanto en estudios de desafío experimental como en condiciones de campo, siempre con resultados halagadores. En la actualidad esta vacuna es elaborada por la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios - (PRONABIVE), en donde el producto terminado se somete a rigurosas pruebas de control de calidad. Desafortunadamente, el mismo inmunógeno es preparado en forma clandestina por numerosos laboratorios, en los que el control de calidad no se realiza, ó bien se realiza en forma muy superficial (11).

Lo anterior da como resultado el uso indiscriminado de un producto que bajo esas circunstancias, podría llegar a producir más daño que beneficios. Un ejemplo de esto, es que la vacunación se esta efectuando en forma masiva, en aves reproductoras de todas las edades y sin la eliminación de aves rectoras. La vacuna no se recomienda para ser aplicada a reproductoras a ningún nivel, ya que una minoría de las aves vacunadas resultaran rectoras positivas. Sin embargo el peligro que haya pollos infectados a partir de huevos de esas vacunadas es muy leve en comparación con el grave riesgo que existe en granjas totalmente susceptibles, en zonas enzoóticas (11, 16).

Objetivos:

- a) Aislamiento, identificación y tipificación de S. gallinarum.
- b) Análisis comparativo del comportamiento bioquímico de S. gallinarum hacia un grupo de azúcares que se utilizan rutinariamente.
- c) Análisis comparativo del comportamiento bioquímico de S. gallinarum con un grupo de pruebas diferentes a los carbohidratos.
- d) Descripción de los comportamientos bioquímicos de S. gallinarum utilizando una serie de azúcares complementarios para las cepas aisladas en Querétaro.
- e) Elaboración y estandarización de una tabla de clasificación y tipificación de S. gallinarum con los resultados obtenidos en el presente trabajo, utilizando la simbología más aceptada.

Dicha tabla se podrá utilizar rutinariamente para la identificación de las cepas aisladas en México.

MATERIAL Y METODOS

1.- CRISTALERIA

- Cajas de petri
- Tubos de ensaye de 10 X 100 mm con tapón de baquelita
- Portaobjetos y cubreobjetos

2.- EQUIPO

- Estufa bacteriológica
- Microscopios (compuesto y estereoscópico)
- Mechero de Bunsen
- Reloj timer

3.- VARIOS

- Dos asas de Henle (platino)
- Gradillas de alambrón

4.- MEDIOS DE CULTIVO

- Generales.- Agar infusión de corazón (HIA), Triptosa Agar (TB-A), Caldo triptosa (TB), Agar sangre (AS), Caldo infusión de corazón (BHI).
- Diferenciales para aislamiento.- MacConkey (Mc.), - Verde Brillante (VB), Caldo Selenite (Sel), Caldo tetratationato (T.T).
- Diferenciales para tipificación.- Triple azúcar hierro (TSI), Agar hierro de Kligler (Kl), Medio de SIM Urea agar, Citrato de Simmons, Caldo base Rojo de Metilo - Voges Proskauer (MR-VP), Caldo base Lisina - descarboxilasa (LD), Caldo base Arginina deshidrolasa (AD).

5.- REACTIVOS

- Reactivo de Kóvac

- Reactivo de Nessler
- Rojo de Metilo
- Acriflavina

6.- AZUCARES

- | | |
|-------------|-------------|
| - Glucosa | - Arabinosa |
| - Lactosa | - Sorbitol |
| - Sacarosa | - Manitol |
| - Maltosa | - Xilosa |
| - Dulcitol | - Glicerol |
| - Ramnosa | - Inulina |
| - Inositol | - Melobiosa |
| - Rafinosa | - Dextrana |
| - Galactosa | - Mucosa |
| - Levulosa | - Dextrina |

7.- REACTIVOS (para tinción de Gram)

- Cristal Violeta
- Iugol
- Alcohol Acetona
- Safranina

8.- MATERIAL DE ARCHIVO

- Hojas clínicas
- Hojas de resultados
- Tablas de resultados de las pruebas bioquímicas.

Métodos:

Se trabajaron aves procedentes de granjas ubicadas dentro del área de influencia al Laboratorio del Centro de Salud Animal de Calamanda, Qro.

Para el efecto del aislamiento de S. gallinarum se obtuvieron los especímenes tanto de aves vivas, así como de animales muertos. Las muestras a obtener fueron las mismas, en ambos casos. Para este caso los órganos a elegir fueron: Hígado, Bazo, Riñón y Ovarios, los cuales se obtuvieron asépticamente del sitio anatómico y fueron colocados en una charola. Cerca de uno o dos mecheros Bunsen.

La superficie del tejido se quema con una espátula caliente y se abren con unas tijeras o con un escapelo afilado, con objeto de obtener material suficiente con el asa de siembra o hisopo, el tejido se desmenuza en la incisión mediante el escapelo.

Se realiza una siembra primaria cuyo objetivo es el cultivo de los organismos y obtener colonias separadas de las cuales se obtienen los cultivos puros. Los medios de cultivo utilizados fueron: MacConkey, VB, HIA, Caldo Selenite y/o Tetracionato. Por lo general el material se sembró en estría sobre la superficie del medio. Posteriormente las cajas fueron incubadas durante 24 horas a 37 °C.

La siembra primaria en Caldo Selenite o Tetracionato - se hizo mediante la obtención de material de los órganos sospechosos con un hisopo, el cual se introdujo en un tubo conteniendo el medio de cultivo.

Se hicieron extensiones en laminillas las cuales se te

ñian con la tinción de Gram. Para la preparación del frotis se deben utilizar laminillas limpias libres de grasa, esterilizar el asa en la llama de Bunsen, colocar una gota de agua destilada sobre una laminilla limpia y volver a esterilizar el asa, con el asa llevar al portaobjeto una pequeña porción del cultivo y se emulsiona en la gota de agua hasta conseguir una película homogénea, esterilizar el asa a continuación. Se deja secar, se fija con calor suave y se tiñe con la tinción de Gram y se observa la forma y si es colonia pura ó hay crecimientos mixtos.

La tinción de Gram consiste en lo siguiente: una vez preparado el frotis se aplica una solución de cristal violeta al 0.5% durante 30 Seg. al término de los cuales se reemplaza por una solución yodo yodura de Lugol, dejando la actuar de 30 Seg. a un minuto, se lava con alcohol absoluto ó acetona hasta que ya no aparezca coloreada, se lava con agua, se aplica Safranina la cual se deja actuar durante dos minutos (si se usa Fuchsin diluida teñir solo durante 30 Seg.), se lava con agua, enjuagar cuidadosamente y secar al calor suave.

En caso de que las colonias sean puras se procede a efectuar la bioquímica, en caso contrario se requerirá hacer un subcultivo.

Se efectuó la técnica de gota suspendida para confirmar la característica de motilidad, la cual consiste en lo siguiente: se utilizan un portaobjetos y un cubreobjetos, se hace en el portaobjetos un anillo de plastilina ó vaselina, se pone una gota de agua destilada en el cubreobjetos se coloca una asada del cultivo de organismos, se desciende al portaobjetos sobre ella, se invierte la preparación y se

examina: en la prueba positiva se observa un desplazamiento uniforme de la bacteria. En la prueba negativa no hay desplazamiento, ó movimiento Browniano, en el cual las bacterias oscilan con ligereza debido al bombardeo molecular.

TECNICA PARA LA IDENTIFICACION BIOQUIMICA

Se sembró la Bacteria en los siguientes substratos: medio de TSI y/o KI, SIM, Urea agar, citrato de Simmons, - Caldo base MR - VP, Caldo base AD, Caldo base LD, además de 20 Azúcares.

El medio de TSI se sembró por medio de picadura y estrias en la superficie; este medio debe leerse en el fondo, superficie y si el agente en cuestión produce ácido sulfhídrico.

La motilidad puede ser observada en el medio SIM. Cuando la prueba es positiva los organismos móviles migran de la línea de siembra y se difunden en el medio, provocando turbidez en el seno del medio. Pueden mostrar un crecimiento en estrias vellosas. Cuando los organismos no son móviles se observa un crecimiento acentuado siguiendo la línea de siembra, el medio circundante se mantiene claro. La producción de H_2S en el medio SIM se observa por la aparición de un color negro en el medio.

El medio de SIM se sembró por picadura. Este medio nos sirve para determinar si el agente produce Indol, nos indica la motilidad y la producción de ácido sulfhídrico. - Para la detección de la producción de Indol se agregan 8 gotas del reactivo de Kóvac; cuando la reacción en positiva se forma en anillo de color rosa brillante en la superficie del medio.

El medio de urea agar se siembra por estria continua - en la superficie del agar, se incubaron y se observaron - las 24 hrs. y 48 hrs., en la reacción positiva nos produce un cambio de color, el medio inicialmente de color amarillo pálido se torna de un color rojo rosado intenso en la superficie del agar. En la reacción negativa no hay - cambio de color.

El Citrato de Simmons se siembra por estria continua - en la superficie del agar, se incuba el medio a 37°C., y se observan las reacciones durante siete días. La prueba positiva el medio inicialmente de color verde botella cambia su coloración a un color azul intenso; en la prueba - negativa no se observa crecimiento ni cambio de coloración.

El Caldo base MR - VP se utilizó únicamente para la - prueba de MR debido a la carencia de los reactivos para - la prueba de VP. Se inoculó el medio y se incubó por - - 48 hrs., se agregaron 5 gotas del indicador de pH rojo de metilo. En la prueba positiva el medio es lo suficiente mente ácido como para permitir que el rojo de metilo man tenga un definido color rojo. En la prueba MR negativa el medio es amarillo. Cuando hay reacción retardada el medio se torna color naranja y se debe continuar la incubación por cuatro días más y repetir la prueba.

Para la prueba de AD se utilizó el Caldo base AD. La descarboxilación de la lisina, puede ser detectada en for ma simple por la observación del cambio de color utilizan do el reactivo de Nessler y observar la reacción, incluso hasta los 4 - 5 días. Se agrega al medio inoculado 6 gotas del reactivo de Nessler. En la reacción positiva el me--

dio se torna de un color café, caso contrario, en la reacción negativa el medio conserva un color púrpura.

Para la prueba de la LD. Se inocula el medio y se realiza la lectura a las 24 hrs., en el caso de una reacción positiva el medio se conserva de un color violeta, en la reacción negativa el medio es amarillo. Se utilizó un medio como testigo sin inocular.

Para las reacciones bioquímicas en carbohidratos, se utilizaron en base sólida, utilizando el rojo de fenol como indicador de pH, agar al 1% y el hidrato de carbono específico también al 1%.

Los carbohidratos se inocularon por picadura, se incuban en la estufa y se efectuó la lectura a las 24 y 48 horas, excepcionalmente 72 y hasta 96 hrs., en algunos azúcares de difícil desdoblamiento como el dulcitol, xilosa, glicerol y sorbitol.

La diferenciación bioquímica con S. pullorum se basó - en que S. gallinarum produce ácido pero no gas de la glucosa, fermenta la maltosa y dulcitol mientras que S. pullorum no fermenta estos azúcares.

Resultados:

En el cuadro No. 1 se enumeran las 15 enfermedades más frecuentemente diagnosticadas en aves durante los años 1980 - 1985 en el Laboratorio del Centro de Salud Animal de Calamanda, Gro. Pudiéndose observar que la Tifoidea aviar ocupa el 3^{er} sitio en importancia, de acuerdo al número de diagnósticos, solamente superada por la Enfermedad Crónica Respiratoria (E.C.R.) y la Colibacilosis, estas últimas junto con la tifoidea aviar representan el 53.8% del total de diagnósticos. Es aquí donde radica la importancia de S. gallinarum como productor importante de enfermedad.

En los cuadros No. 2 y 2a. se aprecia como de el total de diagnósticos de salmonelosis el 75.2% correspondió a aves, resultando ser la especie animal más afectada, su perando con un amplio margen a las otras especies.

En los cuadros No. 3 y 3a. tenemos las diferentes especies de Salmonella aisladas e identificadas por bioquímica durante los años 1980 - 1985, sin importar la fuente del aislamiento. Las especies de Salmonella aisladas fueron: S. gallinarum 67.6%, S. enteritidis 13.4%, S. cholerasuis 7.2%, S. typhi 7%, S. pullorum 4.5% y S. arizonae 0.3%. Se aprecia como S. gallinarum predominó ampliamente sobre otras especies de Salmonella.

En el cuadro No. 4 se presentan los casos de Salmonella y la especie animal afectada a los cuales no fue posible hacerles la prueba bioquímica, debido a diferentes causas, mismas que se mencionan al margen del cuadro.

En el cuadro No. 5 se detallan las especies de Salmo-

nella aisladas, así como la fuente del aislamiento. La especie aviar fue la más afectada siguiendo los bovinos y después los suinos. S. gallinarum se aisló de otras - especies animales como caprinos y roedores, así como de alimentos y agua.

En los cuadros No. 6 y 6a. enumeramos las especies de Salmonellas encontradas en aves, en base al número de - aislamientos, primeramente tenemos a S. gallinarum con - 237 aislamientos, seguida de S. typhi con 23, S. enteritidis y S. pullorum con 8 cada una y por último a S. choleraesuis con solo un aislamiento. Ocupando S. gallinarum el 85.6% en relación a las otras especies de Salmonella aisladas de aves.

En el cuadro No. 7 tenemos la frecuencia de presentación por edad de Tifoidea aviar, encontrándose un mayor porcentaje de aislamientos en aves durante la primera semana de vida 31.5% y en la 7a. semana de edad 13.0% a las aves de más de 9 semanas de edad correspondió un 30.5%, por lo que se deduce que dentro del área de influencia del Laboratorio de diagnóstico de Patología Animal de Calamanda, Gro. La incidencia es mayor en aves de menos de 9 semanas, sumando un 69.5%.

En el cuadro No. 8 observamos que de acuerdo a la función zootécnica, las aves de engorda fueron afectadas en un 63.5%. Otras aves dedicadas a la postura o bien son reproductoras y/o progenitoras sumaron un 26.0%. En este cuadro también se observa como los pavos son afectados ampliamente, en este estudio el 10.5% de diagnósticos de Tifoidea aviar correspondió a este tipo de aves.

El cuadro No. 9 muestra el comportamiento de S. galli

narum durante el año de 1980 a las pruebas bioquímicas, siendo como sigue: La reacción más común en TSI fue Y NC+

Las pruebas de indol, motilidad y urea fueron (-), el citrato fue (-) en un 90.9%. Produjeron H₂S 81.8% de las cepas de S. gallinarum. Fermentaron la dextrosa, maltosa y dulcitol. No fermentaron a la lactosa y sacarosa.

En el cuadro No. 10 se reseña el comportamiento de S. gallinarum durante el año de 1981 a las pruebas bioquímicas. En este año se incrementaron el Núm. de pruebas. En TSI hubo una mayor variabilidad en las reacciones, siendo Y NC + la reacción más común, la producción de H₂S en TSI fue de 76.6%. Las pruebas de indol, motilidad y urea fueron (-), el citrato fue (-) en un 57.4%. Fermentaron la dextrosa, maltosa, dulcitol, arabinosa, manitol, levulosa y galactosa. No fermentaron la lactosa, sacarosa, dextrina, sorbitol, xilosa, inositol e inulina. La ramnosa y rafinosa tuvieron una reacción variable, siendo la primera positiva en un 75% y la otra (-) en un 71.4% y las reacciones a RM fueron (+).

El cuadro No. 11 muestra los resultados obtenidos durante el año de 1982 encontrándose que: la reacción más común en TSI fue Y NC +. 54.6% de las cepas trabajadas produjeron H₂S en la prueba de TSI, indol y motilidad fueron (-), el citrato fue (-) en un 81.8%. Fermentaron a la dextrosa, maltosa, dulcitol, arabinosa, levulosa, manitol y galactosa. No fermentaron a la lactosa, sacarosa, xilosa y rafinosa, el sorbitol fue variable 50% (+) y 50% (-). La ramnosa tuvo reacción variable con 52.4% (-) y 47.6% (+).

El cuadro No. 12 presenta las reacciones bioquímicas

correspondientes al año 1983. Siendo estas como sigue: En este año una cepa de S. gallinarum produjo una reacción atílica en TSI siendo esta NC NC - correspondiendo todas las demás reacciones a las producidas por S. gallinarum. Durante este año se obtuvieron diferentes reacciones en TSI siendo la más común Y NC +. La producción de H₂S fue variable con un 64.7% de cepas que si produjeron H₂S El indol fue (-) asimismo la motilidad y la producción de urea. El citrato fue (-) en un 85.9%. Fermentaron la dextrosa, maltosa, dulcitol, arabinosa, manitol, glicerol, ramosa, galactosa, levulosa y manosa. No fermentaron la lactosa, sacarosa, xilosa, inositol, rafinosa, sorbitol, inulina, melobiosa y dextrana. El RM fue (+), LD (+), - VP (-) y acriflavina (+).

En el cuadro No. 13 se resumen las reacciones bioquímicas encontradas en el año de 1984. La reacción más común en TSI fue Y Y - representando el 50.9%, presentando se además otras diferentes reacciones. El indol y motilidad fueron (-) en el medio de SIM. La producción de H₂S en TSI fue de 32%, mientras que en el medio de SIM fue de 84.9%, la urea fue (-), citrato (-) en un 84.9%. La utilización de azúcares por S. gallinarum fue como sigue: fermentaron la dextrosa, maltosa, dulcitol, arabinosa, - manitol, glicerol, ramosa, galactosa, levulosa y manosa. No fermentaron la lactosa, sacarosa, inositol, rafinosa, sorbitol, inulina, melobiosa y dextrana. La xilosa tuvo una reacción variable. El RM fue (+), la prueba de LD y acriflavina fueron (+).

El cuadro No. 14 presenta las reacciones bioquímicas encontradas durante el año de 1985. La reacción más común en TSI fue Y NC + con un 45.8%: presentandose también -

otras reacciones. El indol y motilidad fueron (-), la producción de H_2S fue variable, el citrato fue (-) en un 66.7% y (+) en un 33.3%. Fueron fermentadas la dextrosa, maltosa, dulcitol, arabinosa, manitol, ramnosa, galactosa levulosa y manosa. No fermentaron la lactosa, sacarosa, xilosa, inositol, rafinosa, sorbitol, inulina, melobiosa y dextrana. El glicerol tuvo una reacción variable, siendo reacción (-) en el 50% de las cepas trabajadas. El RM y LD fueron (+).

En el cuadro No. 15 se presentan las reacciones bioquímicas de las 242 cepas de S. gallinarum que se incluyen en el presente estudio. En la prueba de TSI se presentaron 8 reacciones diferentes, siendo la más común Y NC + . El 100% de las cepas trabajadas fueron (-) a las pruebas de indol, motilidad y producción de urea. La producción de H_2S fue sumamente variable, en TSI el 59.9% de las cepas produjeron H_2S , mientras que el 5.8% no tuvo una reacción bien definida y el 34.3% de las cepas no produjeron. En el medio de SIM el 67.4% de las cepas produjeron H_2S , el 3.7% no tuvieron una reacción bien definida y el 28.9% no produjeron H_2S . El citrato aunque tuvo una reacción variable el 78.1% fue (-). Las pruebas de indol, motilidad y urea observaron una reacción uniforme siendo (-) en el 100% de los casos. La S. gallinarum fermento los siguientes azúcares: dextrosa, maltosa, dulcitol, arabinosa manitol, glicerol, ramnosa, galactosa, levulosa y manosa. No fermentaron la lactosa, sacarosa, dextrina, xilosa, inositol, rafinosa, sorbitol, inulina, melobiosa, y dextrana. El RM fue (+), LD (+), AD (d) y VP (-).

En el cuadro No. 16 se muestra el cuadro base de referencia para la identificación de S. gallinarum el cual fue

obtenido de Carter, Cowan y otros.

En el cuadro No. 17 se tienen los resultados generales obtenidos de 1980 - 1985. Encontrándose dos variantes importantes, mientras que en el cuadro de referencia (16) se menciona que S. gallinarum fermenta a la dextrina y xilosa; nosotros encontramos que las cepas de S. gallinarum aisladas en Querétaro, no utilizan estos azúcares. Este puede ser el 2^a cuadro base general de identificación.

En el cuadro No. 18 se muestran las reacciones más comúnmente observadas en S. gallinarum durante los años -- 1980 - 1985 en donde se puede apreciar, como ha habido variación en las reacciones bioquímicas en el transcurso de este tiempo.

En el cuadro No. 19 presentamos lo que nosotros sugerimos como una tabla de referencia para la identificación de S. gallinarum en México. Las pruebas de TSI y citrato están sujetas a una variabilidad relativamente alta. En este cuadro y para estas pruebas solo mencionamos las reacciones que se presentan con mayor frecuencia.

En el cuadro No. 20 enumeramos otros azúcares, que no son utilizados comúnmente y que no mencionan otros autores, los cuales no presentan una variabilidad elevada por lo que serían de mucha utilidad en una bioquímica rutinaria.

En el cuadro No. 21 se mencionan los azúcares que no presentan una variación elevada en su reacción. Por lo tanto son de mayor utilidad para la identificación de S. gallinarum. Se puede apreciar como casi el 100% presentan una reacción uniforme.

En el cuadro No. 22 se enumeran los azúcares de una mayor variabilidad en sus reacciones, sin embargo, todavía

pueden ser utilizados con un margen de seguridad adecuado ya que del 90% - 98% de las reacciones son uniformes.

En el cuadro No. 23 tenemos al glicerol y ramosa, azúcares que observan una reacción variable, cuando son (+) nos dan una reacción tardía, habiendo un porcentaje significativo que nos da reacción (-).

En el cuadro No. 24 enlistamos los municipios de los cuales proceden las cepas aisladas de S. gallinarum, los cuales corresponden a los Estados de Querétaro, Hidalgo, Guanajuato, México y Michoacán.

15 DE LAS PRINCIPALES ENFERMEDADES DIAGNOSTICADAS EN AVES
DURANTE LOS AÑOS 1980 - 1985

25

	1980		1981		1982		1983		1984		1985		TOTALES	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
1.- E.C.R.	33	14.7	52	15.1	98	30.9	87	21.6	75	21.9	54	25.5	399	21.6
2.- COLIBACILOSIS	60	26.7	92	26.7	49	15.5	61	15.1	60	17.5	34	16.0	356	19.3
3.- TIPOIDRA AVIAR	15	6.7	52	15.1	38	12.0	70	17.4	44	12.8	19	9.0	238	12.9
4.- S. ASCITICO	4	1.8	14	4.1	23	7.2	31	7.7	30	8.7	22	10.4	124	6.7
5.- NEWCASTLE	14	6.2	13	3.8	25	7.9	28	7.0	18	5.2	14	6.6	112	6.1
6.- MAREK	26	11.5	27	7.8	11	3.5	22	5.5	16	4.7	7	3.3	109	5.9
7.- ESTAFILOCOCCOSIS	5	2.2	26	7.6	17	5.4	25	6.2	18	5.2	13	6.1	104	5.7
8.- GUMBORO	5	2.2	6	1.7	5	1.6	18	4.5	27	7.9	8	3.8	69	3.7
9.- DESHIDRATACION	5	2.2	24	7.0	8	2.5	9	2.2	11	3.2	3	1.4	60	3.3
10.- PARATIFOIDEA	25	11.1	12	3.5	15	4.7	1	0.2	2	0.6	1	0.5	56	3.0
11.- ONFALITIS	14	6.2	5	1.4	4	1.3	18	4.5	2	0.6	9	4.2	52	2.8
12.- PARASITOSIS INT.	6	2.7	3	0.9	9	2.8	11	2.7	9	2.6	7	3.3	45	2.4
13.- ASPERGILOSIS	8	3.5	13	3.8	6	1.9	5	1.2	8	2.3	4	1.9	44	2.4
14.- COCCIDIOSIS	2	0.9	5	1.4	1	0.3	6	1.5	13	3.8	11	5.2	38	2.1
15.- COLERA AVIAR	3	1.3	0	0.0	8	2.5	11	2.7	10	2.9	6	2.8	38	2.1
	225		344		317		403		343		212		1844	

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio del Centro de Salud Animal de Calamanda, Gro.

CUADRO 2

DIAGNOSTICOS DE SALMONELOSIS EN DIFERENTES ESPECIES

ESPECIE	1980	1981	1982	1983	1984	1985	TOTALES
AVES	46	66	49	86	55	26	328
BOVINOS	21	4	10	26	16	3	80
SUINOS	1	8	2	1	4		16
OTROS		6	5		1		12
TOTALES	68	84	66	113	76	29	436

CUADRO 2a

TOTAL DE DIAGNOSTICOS DE SALMONELOSIS EN DIFERENTES ESPECIES

ESPECIE	No.	%
AVES	328	75.2
BOVINOS	80	18.3
SUINOS	16	3.7
OTROS	12	2.7

Estos totales incluyen casos de Salmonella diagnosticadas - con bioquímica y sin bioquímica.

CUADRO 3

ESPECIES DE SALMONELLAS IDENTIFICADAS CON BIOQUIMICA EN
DIFERENTES ESPECIES DE ANIMALES

ESPECIE	1980	1981	1982	1983	1984	1985	TOTALES
<i>S.gallinarum</i>	11	47	22	85	53	24	242
<i>S.enteritidis</i>	6	9	3	20	7	3	48
<i>S.cholerasuis</i>	3	1	4	4	13	1	26
<i>S.typhi</i>	22	1	1		1		25
<i>S.pullorum</i>		7	7	1		1	16
<i>S.arizonae</i>		1					1
TOTALES	42	66	37	110	74	29	358

CUADRO 3a

TOTALES POR ESPECIES EN LOS AÑOS 1980 - 1985

ESPECIE	No.	%
<i>S.gallinarum</i>	242	67.6
<i>S.enteritidis</i>	48	13.4
<i>S.cholerasuis</i>	26	7.2
<i>S.typhi</i>	25	7.0
<i>S.pullorum</i>	16	4.5
<i>S.arizonae</i>	1	0.3

CUADRO 4

CASOS DE SALMONELLA SIN BIOQUIMICA

ESPECIE	80	81	82	83	84	85	TOTALES POR ESPECIE
AVES	12	15	24				51
BOVINOS	13	1	4	3	1		22
CERDOS	1	2	1		1		5
TOTALES	26	18	29	3	2	0	78

NOTA: Estos diagnósticos se realizaron en base a la historia clínica y lesiones a la necropsia. No se llegó al aislamiento, por no haber crecimiento en los medios de cultivo. Una de las razones principales de esto, es que los animales habían sido tratados masivamente con antibióticos con menos de 24 a 48 horas. Otra de las causas es que en ocasiones las aves llegaban en avanzado estado de descomposición y otras bacterias con más poder de invasividad, cubrían ó - inhibían el crecimiento más lento de S. gallinarum.

CUADRO 5

CEPAS DE SALMONELLA IDENTIFICADAS CON BIOQUIMICA POR ESPECIE

A Ñ O S	1980	1981	1982	1983	1984	1985	TOTALES
---------	------	------	------	------	------	------	---------

A V E S

S.gallinarum	11	44	21	85	52	24	237
S.enteritidis	2	2	1		2	1	8
S.cholerasuis			1				1
S.typhi	21		1		1		23
S.pullorum		5	1	1		1	8
Subtotal	34	51	25	86	55	26	277

B O V I N O S

S.enteritidis	4	2		20	5	2	33
S.cholerasuis	3		3	3	10	1	20
S.typhi	1	1					2
S.pullorum			3				3
Subtotal	8	3	6	23	15	3	58

S U I N O S

S.enteritidis		3					3
S.cholerasuis		1		1	3		5
S.pullorum		2	1				3
Subtotal		6	1	1	3		11

*V A R I O S

S.gallinarum		3	1		1		5
S.enteritidis		2	2				4
S.pullorum			2				2
S.arizonae		1					1
Subtotal		6	5		1		12
Totales	42	66	37	110	74	29	358

* Caprinos, alimentos, agua y roedores

CUADRO 6

ESPECIES DE SALMONELLAS IDENTIFICADAS POR BIOQUIMICA EN AVES

ESPECIE	1980	1981	1982	1983	1984	1985	TOTALES
S.gallinarum	11	44	21	85	52	24	237
S.typhi	21		1		1		23
S.enteritidis	2	2	1		2	1	8
S.pullorum		5	1	1		1	8
S.cholerasuis			1				1
TOTALES	34	51	25	86	55	26	277

CUADRO 6a

TOTAL DE CEPAS DE SALMONELLA IDENTIFICADAS POR BIOQUIMICA EN AVES

ESPECIE	No.	%
S.gallinarum	237	85.6
S.typhi	23	8.3
S.enteritidis	8	2.9
S.pullorum	8	2.9
S.cholerasuis	1	0.4

CUADRO 7

FRECUENCIA DE PRESENTACION POR EDAD DE TIPOIDEA AVIAR

EDAD	No. DE CASOS.	%
1 Semana	63	31.5
2 Semana	8	4.0
3 Semana	8	4.0
4 Semana	3	1.5
5 Semana	5	2.5
6 Semana	9	4.5
7 Semana	26	13.0
8 Semana	11	5.5
9 Semana	6	3.0
+9 Semanas	61	30.5

CUADRO 8

FRECUENCIA DE PRESENTACION DE TIPOIDEA AVIAR EN BASE A LA FINALIDAD ZOOTECNICA

FUNCION ZOOTECNICA	NUMERO	%
ENGORDA	127	63.5
OTRAS *	52	26.0
PAVOS:	21	10.5

* Reproductoras, progenitoras y postura

CUADRO 9

REACCIONES BIOQUIMICAS A IO 1980

Reacciones en T S I

Fondo	Superficie	H ₂ S	%
Y	NC	+	72.7
Y	NC	-	9.1
Y	NC/Y	+	9.1
Y	Y	+	9.1

Reacciones en medio SIM

Indol	Motilidad	H ₂ S	%
-	-	+	100.0

U r e a

Fondo	Superficie	%
-	-	100.0

C i t r a t o

Reacción	-	+
%	90.9	9.1

SUBSTRATO	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %
Dextrosa	+	100.0	
Lactosa	-	100.0	
Sacarosa	-	90.9	9.1
Maltosa	+	100.0	
Dulcitol	+	100.0	

Las reacciones diferentes pueden ser + 6 - 6 ±

Ver cuadro 25

REACCIONES BIOQUIMICAS AÑO 1981

Reacciones en T S I

Fondo	Superficie	H ₂ S	%
Y	NC	+	46.8
Y	Y	+	29.8
Y	Y	-	10.6
Y	NC	-	8.5
Y	NC	±	4.2

Reacciones en medio SIM

Indol	Motilidad	H ₂ S	%
-	-	+	57.4
-	-	-	36.2
-	-	±	6.4

U r e a

Fondo	Superficie	%
-	-	100.0

C i t r a t o

Reacción	-	+	±
%	57.4	29.8	12.8

SUBSTRATO	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %	GAS %
Dextrosa	+	100.0		
Lactosa	-	100.0		
Sacarosa	-	93.6	6.4	
Maltosa	+	100.0		2.1
Dulcitol	+	97.9	2.1	
Dextrina	-	100.0		
Sorbitol	-	90.0	10.0	
Xilosa	-	96.9	3.1	
Arabinosa	+	100.0		

CONTINUACION CUADRO 10

SUBSTRATO	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %	GAS %
Ramnosa	d	(+75% -25%)		8.3
Inositol	-	100.0		
Rafinosa	d	(-71.4 +28.6)		7.1
Manitol	+	100.0		6.2
Levulosa	+	100.0		11.8
Inulina	-	100.0		
Galactosa	+	100.0		

PRUEBA	REACCION	%
Motilidad	-	100.0
RM	+	100.0

Las reacciones diferentes pueden ser + ó - ó ±

Ver cuadro 25

CUADRO 11

REACCIONES BIOQUIMICAS AÑO 1982

Reacciones en TSI

Fondo	Superficie	H ₂ S	%
Y	NC	+	36.4
Y	Y	-	22.7
Y	Y	+	18.2
Y	NC	-	18.2
Y	Y	±	4.5

Reacciones en medio SIM

Indol	Motilidad	H ₂ S	%
-	-	-	59.1
-	-	+	40.9

U r e a

Fondo	Superficie	%
-	-	100.0

C i t r a t o

Reacción	-	+	±
%	81.8	9.1	9.1

SUBSTRATO	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %	GAS. %
Dextrosa	+	100.0		
Lactosa	-	95.4	4.5	
Sacarosa	-	95.4	4.5	
Maltosa	+	100.0		
Dulcitol	+	100.0		
Arabinosa	+	100.0		4.5
Sorbitol	d	(+50 -50)		
Xilosa	-	90.5	9.5	
Rafinosa	-	100.0		
Levulosa	+	100.0		

CONTINUACION CUADRO 11

SUBSTRATO	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %	GAS %
Manitol	+	95.2	4.8	4.8
Galactosa	+	100.0		
Ramnosa	d	(-52.4 +47.6)		

PRUEBA	REACCION	%
Motilidad	-	100.0

Las reacciones diferentes pueden ser + δ - $\delta \pm$

Ver cuadro 25

CUADRO 12

REACCIONES BIOQUIMICAS AÑO 1983

Reacciones en T S I

Fondo	Superficie	H ₂ S	%
Y	NC	+	43.5
Y	Y	-	22.3
Y	Y	+	21.2
Y	NC	-	9.4
Y	Y	+	2.3
NC	NC	-	1.2

Reacciones en medio SIM

Indol	Motilidad	H ₂ S	%
-	-	+	64.7
-	-	-	28.2
-	-	±	7.1

U r e a

Fondo	Superficie	%
-	-	100.0

C i t r a t o

Reacción	-	+	±
%	85.9	10.6	3.5

SUBSTRATO	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %	GAS %
Dextrosa	+	100.0		
Lactosa	-	100.0		
Sacarosa	-	100.0		
Maltosa	+	100.0		2.3
Dulcitol	+	99.8	1.18	2.3
Arabinosa	+	98.8	1.18	1.2
Manitol	+	100.0		
Xilosa	-	97.6	2.4	

CONTINUACION CUADRO 12

SUBSTRATO	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %	GAS %
Glicerol	+	98.5	1.5	
Ramnosa	+	90.4	9.6	1.2
Inositol	-	100.0		
Rafinosa	-	100.0		
Sorbitol	-	90.0	10.0	
Galactosa	+	100.0		
Levulosa	+	100.0		
Inulina	-	100.0		
Melobiosa	-	100.0		
Dextrana	-	100.0		
Manosa	+	94.1	5.9	

PRUEBA	REACCION	%
Motilidad	-	100.0
RM	+	100.0
LD	+	100.0
V ^m	-	100.0
Forma	R	100.0
Acriflavina	+	100.0

Las reacciones diferentes pueden ser + ó - ó ±

Ver cuadro 25

CUADRO 13

REACCIONES BIOQUIMICAS AÑO 1984

Reacciones en TSI

Fondo	Superficie	H ₂ S	%	GAS %
Y	Y	-	50.9	
Y	Y	+	18.8	3.8
Y	NC	+	13.2	
Y	Y	±	7.5	
Y	NC	-	5.7	1.9
Y	NC	±	3.8	

Reacciones en medio SIM

Indol	Motilidad	H ₂ S	%
-	-	+	84.9
-	-	-	15.1

U r e a

Fondo	Superficie	%
-	-	100.0

C i t r a t o

Reacción	-	+
%	84.9	15.1

SUBSTRATO	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %	GAS %
Dextrosa	+	100.0		1.9
Lactosa	-	100.0		
Sacrosa	-	96.0	4.0	
Maltosa	+	100.0		3.8
Dulcitol	+	100.0		
Arabinosa	+	88.7	11.3	3.8
Manitol	+	100.0		3.8
Xilosa	d	(-82.0 +18)		
Glicerol	+	100.0		

CONTINUACION CUADRO 13

SUBSTRATO	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %	GAS %
Ramnosa	+	94.3	5.7	
Inositol	-	100.0		
Rafinosa	-	100.0		
Sorbitol	-	100.0		
Galactosa	+	100.0		7.5
Levulosa	+	100.0		3.8
Mulina	-	98.1	1.9	
Holobiosa	-	100.0		
Dextrana	-	100.0		
Manosa	+	100.0		

TRUZZA	REACCION	%
Hortilidea	-	100.0
MI	+	100.0
15)	+	100.0
Aeriflorino	+	100.0

Las reacciones diferentes pueden ser + ó - ó ±

Ver cuadro 25

CUADRO 14

REACCIONES BIOQUIMICAS AÑO 1985

Reacciones en TSI

Pondo	Superficie	H ₂ S	%	GAS %
Y	NC	+	45.8	4.2
Y	NC	-	20.8	
Y	Y	+	12.5	
Y	Y	-	12.5	4.2
Y	NC	±	8.4	

Reacciones en medio SIM

Indol	Motilidad	H ₂ S	%
-	-	+	66.7
-	-	-	33.3

Citrato

Reacción	-	+
%	66.7	33.3

SUBSTRATO	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %	GAS %
Dextrosa	+	100.0		12.5
Lactosa	-	95.8	4.2	
Sacarosa	-	95.8	4.2	
Maltosa	+	100.0		
Dulcitol	+	100.0		4.2
Arabinosa	+	100.0		
Manitol	+	100.0		4.2
Xilosa	-	87.5	12.5	
Glicerol	d	-50.0 +50.0		
Ramnose	+	95.8	4.2	
Inositol	-	100.0		
Rafinosa	-	100.0		
Sorbitol	-	95.8	4.2	
Galactosa	+	100.0		
Levulosa	+	100.0		
Inulina	-	100.0		

CONTINUACION CUADRO 14

SUBSTRATO	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %	GAS %
Melobion	-	100.0		
Dextrona	-	100.0		
Honour	+	35.8	4.2	

PRUEBA	REACCION	%
Estilbeno	-	100.0
B ₁	+	100.0
B ₂	+	100.0
A ₁	(d)	+52.8 -41.2
Aciclovir	+	100.0

Las reacciones diferentes pueden ser + ó - ó ±

Ver cuadro 25

CUADRO 15

CUADRO GENERAL DE REACCIONES BIOQUIMICAS
DE 242 CEPAS DE *S. gallinarum*

Reacciones en T S I

Fondo	Superficie	H ₂ S	%	GAS %
Y	NC	+	38.4	0.4
Y	Y	-	24.4	0.4
Y	Y	+	21.5	0.8
Y	NC	-	9.5	0.4
Y	Y	±	2.9	
Y	NC	±	2.5	
Y	NC/Y	±	0.4	
NC	NC	-	0.4	

Reacciones en medio S I M

Indol	Motilidad	H ₂ S	%
-	-	+	67.4
-	-	-	28.9
-	-	±	3.7

U r e a

Fondo	Superficie	%
-	-	100.0

C i t r a t o

Reacción	-	+	±
%	78.1	17.4	4.5

SUBSTRATO	REACCION	REACCION DIFERENTE %		GAS %
		%	%	
Dextrosa	+	100.0		1.6
Lactosa	-	99.2	0.8	
Sacarosa	-	96.7	3.3	
Maltosa	+	93.6	0.4	2.1

CONTINUACION CUADRO 15

SUBSTRATO	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %	GAS %
Dulcitol	+	99.2	0.8	0.8
Dextrina	-	100.0		
Arabinosa	+	97.0	3.0	2.2
Manitol	+	99.5	0.5	1.6
Xilosa	-	90.5	9.5	
Glicerol	(+)	89.4	10.6	
Ramnosa	(+)	86.5	13.5	0.5
Inositol	-	100.0		
Rafinosa	-	96.4	3.6	0.9
Sorbitol	-	96.1	3.9	
Galactosa	+	100.0		3.8
Levulosa	+	100.0		3.6
Inulina	-	99.6	0.4	
Melobiosa	-	100.0		
Dextrano	+	100.0		
Manosa	+	97.0	3.0	

PRUEBA	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %
Motilidad	-	100.0	
pH	+	100.0	
LD	+	100.0	2.1
LD	(a)	+55.8 -11.2	
VP	-	100.0	
Torro	+	100.0	
Seriflovia	+	100.0	

a

Las reacciones diferentes pueden ser - ó + ó ±

Ver cuadro 25

CUADRO 16

CUADRO GENERAL DE REACCIONES BIOQUIMICAS
PARA IDENTIFICACION DE *S. gallinarum*
(CUADRO BASE DE REFERENCIA)

AZUCARES	REACCION
Dextrosa	+
Lactosa	-
Sacarosa	-
Maltosa	+
Dulcitol	+
Dextrina	+
Arabinosa	+
Manitol	+
Xilosa	+
Glicerol	(+)
Ramnosa	(+)
Inositol	-
Sorbitol	-
Galactosa	+
Manosa	+

OTRAS PRUEBAS	REACCION
Motilidad	-
RI	+
LD	+
AD	(+)
V-P	-
Indol	-
H ₂ S	(d)
Urea	-
Citrato	(d)

Ver cuadro 25

b y c

Fuente:

- 1.- Carter G. R., Procedimientos de diagnóstico en bacteriología y micología veterinaria Ed. Acribia Zaragoza España 1969.
- 2.- Cowan S. T. y Steel K. Y., Manual para identificación de bacterias de importancia médica., CECSA, 2da. Edición 1979.
- 3.- Manual Difco., Difco Laboratories Detroit, Michigan 1971.
- 4.- Manual de Diagnóstico Bacteriológico. UNAM, 1974.
- 5.- Merchant J. A. Packer P. A. Bacteriología y Microbiología Veterinaria. Ed. Acribia, 3ra. Edición 1975.

CUADRO 17
 RESULTADOS GENERALES DE LAS REACCIONES BIOQUIMICAS
 DE 1980 - 1985

AZUCARES	REACCION
Dextrosa	+
Lactosa	-
Sacarosa	-
Maltosa	+
Dulcitol	+
Dextrina	-
Arabinosa	+
Manitol	+
Xilosa	-
Glicerol	(+)
Ramnosa	(+)
Inositol	-
Rafinosa	-
Sorbitol	-
Galactosa	+
Levulosa	+
Inulina	-
Melobiose	-
Dextrana	-
Manosa	+

OTRAS PRUEBAS	REACCION
Motilidad	-
RM	+
Id	+
AD	(+)
V-P	-
Indol	-
H ₂ S	(d)
Urea	-
Citrato	(d)

Resultados cuantificados individualmente para cada una de las pruebas.

Ver cuadro 25

CUADRO 18

CUADRO DE REACCIONES BIOQUIMICAS TÍPICAS DE *S. gallinarum*
DE 1980 - 1985

SUBSTRATO	1980	1981	1982	1983	1984	1985
T S I*	Y NC +	Y NC +	Y NC +	Y NC +	Y Y -	Y NC +
S I E**	- - +	- - +	- - -	- - +	- - +	- - +
UREA***	- -	- -	- -	- -	- -	- -
CITRATO	-	-	-	-	-	-
DEXTROSA	+	+	+	+	+	+
LACTOSA	-	-	-	-	-	-
SACAROSA	-	-	-	-	-	-
MALTOZA	+	+	+	+	+	+
DULCITOL	+	+	+	+	+	+
DEXTRINA		-				
ARABINOSA		+	+	+	+	+
MANITOL		+	+	+	+	+
XILOSA		-	-	-	d	-
Glicerol				+	+	d
RAFINOSA		d	d	(+)	(+)	(+)
INOSITOL		-		-	-	-
RAFINOZA		d	-	-	-	-
SORBITOL		-	d	-	-	-
GALACTOSA		+	+	+	+	+
LEVULOZA		+	+	+	+	+
INULINA		-		-	-	-
MELIBIOSA				-	-	-
DEXTRANA				-	-	-
MANOSA				+	+	+
MOTILIDAD			-	-	-	-
EM				+	+	+
LD				+	+	d
AD						(d)
V-P				-		
FORMA				R		

*TSI, se lee: Fondo, superficie inclinada, producción de H_2S .

**SIF, se lee: Producción de indol, motilidad, producción de H_2J .

***UREA, se lee: Cambio en fondo y cambio en superficie - inclinada.

Ver cuadro 25

CUADRO 19*

TABLA DE CLASIFICACION Y TIPIFICACION DE *S. gallinarum*

AZUCAR	REACCION	SUBSTRATO	REACCION
DEXTRÓSA	+	T S I	Y NC +
LACTOSA	-	S I M	- - +
SACAROSA	-	UREA	- -
MALTOSA	+	CITRATO	-
DULCITOL	+	RM	+
DEXTRINA	-	MOTILIDAD	-
ARABINOSA	+	LD	+
MANITOL	+	AD	(d)
XILOSA	-	V-P	-
GLICEROL	(+)	FORMA	R
RAFINOSA	(+)		
INOSITOL	-		
RAFINOSA	-		
SORBITOL	-		
GALACTOSA	+		
LEVULOSA	+		
INULINA	-		
MELOBIOSA	-		
DEXTRANA	-		
MANOSA	+		

e

* Este es el cuadro base general que proponemos en el presente estudio para la tipificación bioquímica de *S. gallinarum* en México.

Ver pie de cuadro No. 18

Ver cuadro 25

CUADRO 20

REACCIONES BIOQUIMICAS DE *S.gallinarum* CON OTROS AZUCARES
NO UTILIZADOS COMUNMENTE.

AZUCAR	REACCION	%	REACCION DIFERENTE %
RAFINOSA	-	96.4	3.6
LEVULOSA	+	100.0	
INULINA	-	99.6	0.4
MELOBIOSA	-	100.0	
DEXTRANA	-	100.0	

d

Las reacciones diferentes pueden ser + ó - ó ±

Ver cuadro 25

CUADRO 21

TABLA DE AZUCARES PRIMARIOS

AZUCAR	REACCION	%
Dextrosa	+	100.0
Lactosa	-	99.2
Maltosa	+	99.6
Dulcitol	+	99.2
Dextrina	-	100.0
Manitol	+	99.5
Inositol	-	100.0
Galactosa	+	100.0
Levulosa	+	100.0
Inulina	-	99.6
Melobiosa	-	100.0
Dextrana	-	100.0
Manosa	+	99.0

CUADRO 22

TABLA DE AZUCARES SECUNDARIOS

AZUCAR	REACCION	%
Sacarosa	-	96.7
Arabinosa	+	97.0
Xilosa	-	90.5
Rafinosa	-	96.4
Sorbitol	-	96.1

CUADRO 23

TABLA DE AZUCARES TERCIARIOS

AZUCAR	REACCION	%
Glicerol	(+)	83.4
Ramnosa	(+)	86.5

Ver cuadro 25

CUADRO 24

PROCEDENCIA DE LOS AISLMIENTOS DE LAS CEPAS DE *S. gallinarum*

<u>L O C A L I D A D</u>	<u>No. DE CASOS</u>	<u>%</u>
1.- Colón, Qro.	42	19.8
2.- Querétaro, Qro.	34	16.0
3.- Villa del Marqués, Qro.	17	8.0
4.- Pedro Escobedo, Qro.	17	8.0
5.- Ezequiel Montes, Qro.	14	6.6
6.- Villa Corregidora, Qro.	10	4.7
7.- Tequisquiapan, Qro.	9	4.2
8.- Nopala, Hgo.	8	3.8
9.- Polotitlán, Méx.	8	3.8
10.- Huchapan, Hgo.	7	3.3
11.- San Juan del Río, Qro.	6	2.8
12.- San José Iturbide, Gto.	6	2.8
13.- Juventino Rosas, Gto.	4	1.9
14.- Amealco, Qro.	4	1.9
15.- Cadereyta, Qro.	3	1.4
16.- Celaya, Gto.	3	1.4
17.- Alfajayucan, Hgo.	3	1.4
18.- Huimilpan, Qro.	2	0.9
19.- Epitacio Huerta, Mich.	2	0.9
20.- Aculco, Méx.	2	0.9
21.- Tecozautla, Hgo.	2	0.9
22.- Actopan, Hgo.	2	0.9
23.- Temascalcingo, Méx.	1	0.5
24.- Comonfort, Gto.	1	0.5
25.- Jilotepec, Méx.	1	0.5
26.- Sta. Catarina, Gto.	1	0.5
27.- Apaseo el Grande, Gto.	1	0.5
28.- Apaseo el Alto, Gto.	1	0.5
29.- Contepec, Mich.	1	0.5

CUADRO 25

SINROLOS EMPLEADOS Y TERMINOS DESCRIPTIVOS EQUIVALENTES

- + 85-100% de las cepas son positivas (por lo general, la mayor parte, muchas).
- d 16-84% de las cepas son positivas (en algunas, muchas).
- 0-15% son negativas (no, en ninguna, en unas, algunas).
- () Reacción retardada en una prueba ó crecimiento tardío).
- (d) Reacciones diferentes por cepas diferentes; las reacciones positivas son tardías.
- (W) Reacción tardía y débil.
- W/- Reacciones diferentes por cepas diferentes; las positivas son débiles ó el crecimiento es escaso.
- No conocida.
- G Gas producido.
- R En forma de bastón.
- (X) Positivas tardías ó inconstantes (mutáticas).
- Y Reacción ácida.
- NC Reacción alcalina ó sin cambio.
- NC/Y Reacción no definida.

Tomado de Carter (2) y Cowan (3).

Discusión

La Tifoidea aviar resulto ser la tercera enfermedad en importancia y junto con la Enfermedad Crónica Respiratoria y la Colibacilosis representan más del 50% de los diagnósticos totales realizados en aves durante los años 1980-1985.

La S. gallinarum es la especie de Salmonella que más frecuentemente se aisló, durante el tiempo que involucro el presente estudio, representando el 67.6% del total de salmonellas aisladas, sin importar la fuente del aislamiento. En relación con otras especies de salmonellas aisladas de aves a S. gallinarum le correspondio el 85.6%.

La S. gallinarum puede ser aislada de aves de cualquier edad incluso de aves de menos de una semana de vida. En este estudio el mayor número de aislamientos se hizo a partir de aves de engorda. Los pavos son también ampliamente afectados.

Se ha encontrado que S. gallinarum puede aislarse de otras fuentes que no sean animales como agua y alimentos.

Algunas cepas de S. gallinarum que producen H_2S en el medio de TSI no lo hicieron en el medio de SIM y viceversa el 69.1% produjeron H_2S en medio de SIM y el 59.8% lo produjeron en el medio de TSI. Por lo tanto se puede decir que la producción de H_2S es variable y de reacción tardía por lo general 48 hrs. mínimo.

No hay producción de Indol, ni fermentan la urea en ningún caso; pruebas que resultaron constantes.

El citrato durante este período la mayoría de las cepas dieron reacción negativa (78.1%) y (+) tardía, ó tardía débil (W).

Algunos de los azúcares utilizados como: xilosa, ramnosa, rafinosa y glicerol tuvieron variación en sus reacciones durante estos años. La xilosa que tiene una reacción generalmente (-) observo una reacción variable en el año

1984 con un 18% de cepas que tuvieron reacción (+). La ramnosa la cual observa generalmente una reacción (+) tardía durante los años 1981 y 1982 presento una reacción variable. La rafinosa que durante los años 1982-1985, presento una reacción (-) 100%; en el año 1981 28.6% de las cepas fermentaron (+) a este azúcar. Asimismo el glicerol que se caracteriza por tener una reacción (+) lenta, durante 1985 sólo el 50% de las cepas fermentaron este azúcar. Con una reacción (V).

La mayoría de los autores menciona que S. gallinarum fermenta regularmente a la dextrina y xilosa, en este estudio, se encontró que para las cepas aisladas en esta zona no fermentan estos azúcares y solo la xilosa un 9.5% de las cepas la fermento.

Algunos azúcares que son utilizados en forma complementaria para las cepas aisladas en Querétaro como rafinosa, levulosa, inulina, melobiosa y dextrana tienen escasa variabilidad en sus reacciones, por lo que estos azúcares podrían ser utilizados en forma rutinaria para la identificación bioquímica de S. gallinarum.

En el cuadro 19 estandarizamos una tabla de clasificación y tipificación para S. gallinarum de las cepas aisladas en México, de acuerdo a las reacciones más comúnmente encontradas en este estudio. Con esto no queremos decir que no se presenten otro tipo de reacciones diferentes en las cepas estudiadas, sin embargo, las otras reacciones pueden tomarse como un marco de referencia cuando se trate de ha

cer una identificación bioquímica de S. gallinarum que resulte diferente a la de éste cuadro.

De acuerdo al comportamiento bioquímico de los azúcares utilizados en este estudio, y durante este tiempo podemos clasificarlos en 3 grupos, azúcares primarios, aquellos que entran en un rango de constancia en la reacción, del - - - 99-100%. Azúcares secundarios de 90-98.9% y Azúcares terciarios de 86.5-89.8%. Los azúcares primarios presentan escasa variabilidad en sus reacciones por lo tanto serán de mayor utilidad, seguidos de los azúcares secundarios y como azúcares complementarios estarían los azúcares terciarios, los cuales presentan una mayor variabilidad en sus reacciones (cuadros 21, 22 y 23).

Comentarios:

En algunos casos se han hecho bioquímicas de diferente órgano de un mismo animal y se han encontrado cepas de salmonellas diferentes (móviles e inmóviles), lo cual nos sugiere que en la salmonelosis pueden estar involucradas Tifoidea y Paratifoidea al mismo tiempo. Este es un punto a investigar para determinar en que porcentaje están ó estarían involucradas ambas enfermedades.

En ocasiones hay azúcares que en una primera siembra dan resultados que no corresponden con los de S. gallinarum y en una segunda prueba de esos azúcares, los resultados son acordes a lo esperado para esta bacteria.

En algunas cepas de S. gallinarum se han detectado pequeñas cantidades de gas, tanto en TSI como en algunos azúcares.

Hemos visto que es conveniente el uso simultáneo de TSI y K1 para una mayor sensibilidad de detección en la producción de ácido sulfhídrico por parte de la cepa aislada.

Se ha encontrado que S. gallinarum puede aislarse de otras fuentes que no sean animales como agua y alimentos, lo que nos sugiere otras fuentes de contaminación a investigar.

Sería conveniente implementar otras pruebas para la tipificación de S. gallinarum que no se realizan en el Laboratorio actualmente para lograr una identificación más completa.

Las reacciones en TSI son sumamente variables encontrándose que no solo se presenta la reacción 2 y 3, (3) sino que se han encontrado otras variaciones, (cuadro 15).

Conclusiones:

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio se puede concluir lo siguiente:

- 1.- La S. gallinarum como productor de enfermedad, ocupa un lugar preponderante (tercera enfermedad en importancia) dentro del área de influencia del Laboratorio de Calamanda, Qro.
- 2.- La S. gallinarum es la especie de Salmonella que más frecuentemente se aisló de aves.
- 3.- La S. gallinarum puede ser aislada tanto de aves como de otras especies animales así como de agua y alimentos.
- 4.- El mayor número de aislamientos se realizó de aves - de menos de 9 semanas de edad (69.5%).
- 5.- En la prueba de TSI existe una variación muy amplia en las reacciones (pueden encontrarse hasta 7 variantes).
- 6.- La producción de H₂S es variable tanto en TSI como - en el medio de SIM.
- 7.- En el medio de SIM la producción de indol y la motilidad fueron negativos invariablemente.
- 8.- La urea no es utilizada por S. gallinarum.
- 9.- El RM fue (+) en el 100% de los casos.
- 10.- La prueba de LD es (+) en 100% de los resultados.
- 11.- El citrato es variable aunque la mayoría de las cepas presentan reacción (-).
- 12.- S. gallinarum fermento los siguientes azúcares: Dextrosa, maltosa, dulcitol, arabinosa, manitol, glicerol, ramnosa, galactosa, levulosa y manosa.
- 13.- S. gallinarum no fermento los siguientes azúcares: - Lactosa, sacarosa, dextrina, xilosa, inositol, rafínosa, sorbitol, inulina, melobiosa y dextrana.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Backer F. J., Breach M. R. Manual de Técnica bacteriológica Ed. Acribia, 2da. Edición, Zaragoza, España 1970.
- 2.- Beer Joachim. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. Tomo II. Ed. Acribia, 1981.
- 3.- Carpenter P. L. Microbiología, Ed. Interamericana - 4ta. Edición, 1984.
- 4.- Carter G. R. Procedimientos de diagnóstico en bacteriología y micología veterinaria. Ed. Acribia, Zaragoza, España 1969.
- 5.- Cottral G. E. Manual de métodos estandarizados en Microbiología Veterinaria, Ed. La Prensa Médica Mexicana, S. A., 1ra. Edición 1986.
- 6.- Cowan y Steel's. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. CECSA, 2da. Edición - 1979.
- 7.- Davis B. D., Dulbecco R., ET AL; Tratado de microbiología. Ed. Salvat. España; 4ta. reimpresión de la - 1ra. Edición, 1975.
- 8.- Edwards P. R., Ewing W. H. Identification de enterobacteriaceas. Burgess Publishing Company. 3ra. Edición, 1962.
- 9.- El manual Merck de Veterinaria. Editado por Merck y Co., INC., Raway, N. J., USA 2da. Edición 1981.
- 10.- Esparza F. T. Técnica de campo para el diagnóstico - de salmonella en aves progenitoras a través del sistema de aglutinación. Memorias de la VI convención - anual de ANECA. Mérida, Yucatán. México. Abril, 1981.

- 11.- Flores C. R. Aspectos epizootiológicos de la salmonelosis en aves. Memorias de la VI convención anual de ANECA. Mérida, Yucatán. México. Abril 1981.
- 12.- Gordon R. F. Enfermedades de las aves. Tr. Ariel Ortiz M., El Nuevo Mundo, México, 1980.
- 13.- Hagan y Bruner. Enfermedades infecciosas en los animales domésticos, 4ta. Edición en español. La prensa médica mexicana 1983.
- 14.- Hofstad M. S. Diseases of Poultry. Ed. Board For The Association of Avian Pathologists. Ames, Iowa, USA. 8na. Edición 1984.
- 15.- Jawetz E., ET AL. Manual de microbiología médica Ed. El Nuevo Mundo, México; 10a. Edición, 1983.
- 16.- López R. J. Porcentaje de salmonelosis en la mortalidad de pollo de engorda descendientes de reproductoras inoculadas con Salmonella gallinarum cepa 9R. Tesis Licenciatura Facultad de Estudios Superiores - Cuautitlán. UNAM.
- 17.- Manual de diagnóstico bacteriológico. UNAM. 1974.
- 18.- Manual Difco., Difco Laboratories. Detroit, Michigan 1971.
- 19.- Merchant I. A., Packer R. A. Bacteriología y Virología Veterinaria. Ed. Acribia. 3ra. Edición, 1975.
- 20.- Padron N. M., Mosqueda T. A., Pacheco G. Estudio de la disociación de cepas de S. gallinarum mediante el uso de diferentes técnicas. Memorias de la VI convención anual de ANECA. Mérida, Yucatán. México. Abril, 1981.

- 21.- Pelczar M. J., Chan E. C. S. Elementos de Microbiología. Ed. Mc Graw - Hill, Ira. Edición 1984.
- 22.- Peterson E. H., D. V. M. La erradicación de la tifoidea aviaria en países en desarrollo. Memorias de la VI convención anual de ANECA. Mérida, Yucatán. México, Abril, 1981.
- 23.- Ramírez de A. T. R., Delgado L. Ma. Resúmenes de la reunión anual. Área médica. INIP. 1979.
- 24.- Senez J. C. Microbiología general, Ed. ALHAMBRA, S. A., Ira. Edición. Madrid, 1976.
- 25.- Vallarino D. La salmonelosis en México y sus repercusiones económicas. Memorias de la VI convención anual de ANECA. Mérida, Yucatán, México. Abril, 1981.