



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
Y ZOOTECNIA

FRECUENCIA DE *Pasteurella multocida* subs. *septica* EN PERROS Y GATOS DE  
CAPTURA Y DONACIÓN DEL CENTRO DE CONTROL CANINO DE LA  
DELEGACIÓN TLALPAN, MÉXICO, DISTRITO FEDERAL.

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA  
**DAMIÁN ARANDA CALDERÓN DE LA BARCA**

Asesores:  
Dr. Carlos Julio Jaramillo Arango  
M en C. José Antonio Romero López



México, D. F.

2015



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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 esta 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.

## DEDICATORIA

A mi padre, que con sus enseñanzas me mostro el camino correcto, aunque muchas veces no lo sigo y por enseñarme a “hacer siempre lo mejor”.

A mi madre que con grandes sacrificios siempre estuvo ahí para escuchar.

A Cruz María, mi abuela, que siempre me regalo una palabra de aliento cuando más la necesitaba.

A mis hermanos Fabián, Adrián y Amanda, que siempre estuvieron conmigo en el camino y de los cuales sigo aprendiendo día a día.

A mis otros hermanos, Arturo, Rodolfo, Cesar, Ray, Alex, Ro, Jorge, Iván, Rafa, Nina, los que decidí y decidieron acompañarme en esta gran historia que se llama vida.

A ti, Karen, que estuviste a mi lado y eres parte de esto.

A la UNAM, que me brindo una educación de calidad y un segundo hogar.

Para todos los que ayudaron a que mis estrellas se acercaran.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a todas las personas que estuvieron a mi lado en este largo camino y a los que ya no están pero aun así formaron parte de esto.

A mi familia por su infinita paciencia, guía y enseñanzas.

A mis amigos scouts que me brindaron horas de gran felicidad y recuerdos que llevare por siempre.

A mis asesores: MVZ. MCV. José Antonio Romero López, que no solo me brindo ayuda y consejo sino a demás su amistad. Al Dr. Carlos Julio Jaramillo Arango, que me enseñó que no importa cual largo o difícil sea el trayecto siempre hay que recorrerlo.

A la UNAM y a la FMVZ por brindarme la oportunidad de ser un profesionista de calidad y un mejor ser humano.

Al departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública por abrirme las puertas y recibirme como un miembro más del equipo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento para la realización de este trabajo a través del proyecto CB104031.

**CONTENIDO**

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
JUSTIFICACIÓN.....	10
OBJETIVOS.....	10
MATERIAL Y MÉTODO.....	11
RESULTADOS.....	14
DISCUSIÓN.....	17
CONCLUSIONES.....	20
BIBLIOGRAFÍA.....	21

## RESUMEN

DAMIÁN ARANDA CALDERÓN DE LA BARCA. Frecuencia de *Pasteurella multocida* subs. *septica* en perros y gatos de captura y donación del centro de control canino de la delegación Tlalpan, México, Distrito Federal (Bajo la dirección del Dr. Carlos Julio Jaramillo Arango y M en C. José Antonio Romero López).

Con el objetivo de conocer la frecuencia de *Pasteurella multocida* subs. *septica*, se realizó un estudio a partir de muestras provenientes de cavidad oral de perros y gatos de captura y donación del Centro de Control Canino (CENCOCAN) de la delegación Tlalpan, México, D.F. El número de muestras obtenidas fue determinado mediante un muestreo no probabilístico de juicio. Las unidades de observación estuvieron constituidas por perros (n=100) y gatos (n=100), las cuales se obtuvieron en el área de necropsias del CENCOCAN mediante hisopado de cavidad oral de dichas especies, para posteriormente ser sembradas en agar sangre a partir del hisopo e incubadas a 37°C por 24 h. Las cepas se identificaron por las características morfológicas de la colonia y tinción de Gram. La identificación bioquímica se realizó a través del microsistema comercial API 20NE y fermentación de D-sorbitol y dulcitol. Se obtuvieron 36 aislamientos (36%) en perros y 21 aislamientos (21%) en gatos con morfología característica de *P. multocida*. En la identificación bioquímica, de acuerdo con los valores establecidos por el software API WEB, se encontró que el 3.12 % (1/32) de las muestras de perros mostró un resultado positivo a *P. multocida* con una identificación de 66.5 % y una tipicidad de 0.84 %. No obstante, al ser analizadas con la prueba de fermentación de D-sorbitol y dulcitol resultaron negativas, por lo cual no se realizó la prueba de PCR fingerprinting. Respecto a las muestras obtenidas de gatos, todas fueron negativas a la prueba de API 20NE. No fue posible la identificación y tipificación de *P. multocida* subs. *septica*; esto pudo deberse al origen de las muestras, ya que en la mayoría de los estudios las muestras fueron obtenidas a partir de heridas en humanos infligidas por perros o gatos. Según la literatura, es más probable aislar *P. multocida* subs. *septica* en heridas infligidas por gatos que por perros. En heridas infligidas por perros es más probable aislar *P. multocida* subs. *canis* que *P. multocida* subs. *septica*.

**Palabras clave:** *Pasteurella multocida*, *Pasteurella multocida* subs. *septica*.

## **Introducción.**

El perro (*Canis familiaris*), ha sido desde tiempos primitivos de gran trascendencia para la vida del humano dado el estrecho contacto que existe entre ambos, generado por la interacción en diversas actividades. Entre otras tareas, ha colaborado en el cuidado del ganado y en la cacería, obteniendo a cambio, comida y refugio. Con el tiempo, el humano lo adaptó a sus necesidades, creando diferentes razas para las distintas labores a desarrollar, según sean las características ambientales y geográficas.<sup>1</sup>

El gato (*Felis catus*), aunque hace menos tiempo que se domesticó, también ha sido de gran trascendencia en el desarrollo del ser humano, ya que no sólo le ha servido como animal de compañía, sino también lo ha utilizado simbólicamente. En este sentido resalta el culto por parte de diversas culturas, tales como la egipcia, que además de controlar las ratas en los graneros, también era usado como deidad. El caso más claro es el de la diosa Bastet, identificada como una mujer con cabeza de gato y que representa la armonía y la felicidad. Otras culturas en las que el gato representa parte importante de su cosmogonía son la Inca, Maya y Mexica, entre otras.<sup>2</sup>

La cercanía y convivencia del ser humano con ambas especies es un hecho, y es por ello que no se puede pasar por alto el riesgo que existe de transmisión de enfermedades a causa de estas especies. Las enfermedades que se pueden contraer del perro, gato u otros animales son conocidas como zoonosis, que son todas aquellas enfermedades transmisibles de forma natural entre los animales y el humano, entre las cuales se encuentran las de origen bacteriano, viral, parasitario y micótico.<sup>3</sup>

La microbiota oral de perros y gatos está compuesta por gran cantidad de bacterias anaerobias facultativas y anaerobias, que aunque no causan enfermedad en estos animales, si pueden ser patógenos potenciales para el ser humano. La composición de esta microbiota depende en gran medida de la edad del animal, así como del estado de salud de dientes y encías, ya que mientras más deteriorada dicha salud bucal mayor será la cantidad de bacterias albergadas. Así pues, se pueden encontrar de manera normal

*Pasteurella multocida*, *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., especies de *Enterobacteriaceae* y *Corynebacterium* sp., *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Bacteroides* y *Porphyromonas* spp, entre otras.<sup>4-6</sup>

Uno de los agentes que causan zoonosis es la bacteria *Pasteurella multocida* subs. *septica*, que se transmite al humano a través de la mordedura de perros y gatos, ya que la mayoría de éstos son portadores del agente etiológico el cual se alberga en la cavidad oral. No se ha documentado transmisión de persona a persona ni por agua o alimentos contaminados.<sup>3,7</sup>

### ***Pasteurella multocida***

El primer informe de un microorganismo de esta especie fue hecho por Bollinger en 1878. Posteriormente Pasteur en el año de 1880, aisló por vez primera a partir de sangre de aves a la *Pasteurella*, caracterizándola morfológica y bioquímicamente. En 1885, Kit aisló el microorganismo de la sangre de ganado enfermo y lo llamó *Bacterium bipolare multocidum*. El primer caso de infección humana, tras la mordedura de un gato, fue descrito por Kapel y Holm en 1930. Para 1938, Rosenbusch y Merchant emplearon por primera vez el término de *Pasteurella multocida*.<sup>7,8</sup>

El género *Pasteurella* forma parte de la familia *Pasteurellaceae*, la cual se divide en tres géneros: *Pasteurella*, *Actinobacillus* y *Haemophilus*.<sup>9</sup>

La ausencia de hemólisis en medios adicionados con sangre, la producción de indol, la descarboxilación de la ornitina y una reacción de urea negativa permiten diferenciar a *Pasteurella multocida* de las otras especies del género.

De acuerdo con los tipos de componentes capsulares (polisacáridos) de *Pasteurella*, se puede clasificar en cinco grupos A, B, D, E y F; éstos a su vez se pueden dividir en 16 tipos somáticos, dependiendo de las diferencias serológicas en sus lipopolisacáridos (antígeno O). *P. multocida* puede clasificarse en 4 subespecies con base en la subunidad 16S ARNr: *P. multocida* subs. *septica*, *P. multocida* subs. *gallicida*, *P. multocida* subs. *multocida* y *P. multocida* subs. *tigris*. No obstante, con base en la capacidad para llevar a cabo la



fermentación de D-sorbitol y dulcitol *Pasteurella multocida* se divide en tres subespecies: *P. multocida subs. multocida*, *P. multocida subs. septica* y *P. multocida subs. gallicida*.<sup>9-15</sup>

*P. multocida* es un agente patógeno que afecta a varios tipos de mamíferos y aves, tanto domésticos como silvestres y está ampliamente distribuido a nivel mundial, lo que hace casi imposible que se delimite por país o región su presencia. Sin embargo, si hay algunas enfermedades causadas por algún serogrupo de *P. multocida* que se puede delimitar territorialmente.

**Cuadro 1.- Enfermedad, serogrupo y distribución geográfica de *P. multocida*.**

ENFERMEDAD CAUSADA	SEROGRUPO	TERRITORIO
Septicemia hemorrágica del ganado y búfalos de agua	B y E	Asia, África y Sur de Europa
Rinitis atrófica del cerdo	D	Sin delimitación geográfica
Rinitis purulenta del conejo	A y D	Distribución mundial
Cólera aviar	A y F	Distribución mundial
Neumonía en ovinos, caprinos y cerdos	A y D	Distribución mundial
Fiebre de embarque o Pasteurelosis neumónica	A y D	Distribución mundial
Septicemia en ganado bovino	F	Estados Unidos de América y Europa
Peritonitis fibrinosa en aves de corral	F	Distribución mundial

Fuente: TRIGO FJ (1987), DAVIES RL *et al.* (2004) y DABO SM *et al.* (2007).

*Pasteurella multocida subsp. multocida*, es el miembro patógeno más común de este género y es comensal del tracto gastrointestinal y respiratorio de varias especies de animales domésticos y silvestres, constituyendo así su principal reservorio. *Pasteurella multocida subsp. gallicida* y *septica* han sido aisladas específicamente de aves de corral y mascotas (perros y gatos) respectivamente. Los animales que con mayor frecuencia son colonizados son los gatos y los perros, lo que puede representar un riesgo latente de infección para el humano por el estrecho contacto con éstos, ya sean caseros, semicallejeros o callejeros.<sup>4,10</sup>

## Factores de virulencia

Los principales factores de virulencia con los que cuenta *P. multocida* para causar enfermedad son proteínas de membrana externa (OMPs, por sus siglas en inglés), cápsula, antígeno "O", neuroaminidasa, hialuronidasa y proteínas queladoras de hierro.<sup>9, 10</sup>

La cápsula se encuentra en la superficie de una amplia gama de bacterias. Se compone de polisacáridos polianiónicos altamente hidratados; tiene como función dar acceso a ciertas moléculas de la membrana celular, la mediación de la adhesión a las superficies, aumenta la tolerancia a la desecación y da protección contra los mecanismos inmunológicos del hospedero (impide la fagocitosis y reduce la muerte mediada por el complemento).<sup>16</sup>

El antígeno "O" o lipopolisacáridos, son los encargados de la activación de los macrófagos, la inducción del factor de tumoración, activa la cascada de coagulación y estimula la inmunidad humoral.<sup>10, 17</sup>

La neuraminidasa es una proteína que altera los mecanismos de depuración mucociliar del hospedador, actuando directamente en el ácido siálico de las células epiteliales, favoreciendo así la colonización por parte de la bacteria.<sup>18</sup>

La hialuronidasa, conocida como "factor de diseminación", es una enzima hidrolítica que como su nombre lo indica, degrada el ácido hialurónico presente en los componentes de la matriz extracelular, que sirve como cemento intercelular y de esta manera lesiona la estructura de los tejidos del hospedero, favoreciendo la propagación de la bacteria a una área más extensa.<sup>18</sup>

El hierro es un componente esencial para la supervivencia de diversos tipos bacterianos y por ende, éstos han tenido que desarrollar diferentes mecanismos para la absorción de éste. La presencia de niveles altos de hierro en sangre son tóxicos, es por eso que la disponibilidad de este hierro es limitada, por lo que *P. multocida* ha desarrollado múltiples mecanismos para su captación, implicando la síntesis y liberación de moléculas

de bajo peso molecular llamadas sideróforos. Estos componentes se encargan de secuestrar el hierro circulante, para que posteriormente pueda ser aprovechado por la bacteria.<sup>10, 19,20</sup>

### Características morfológicas y bioquímicas de *P. multocida* subs. *septica*

*Pasteurella multocida* subs. *septica* es un bacilo o cocobacilo, Gram (-), tiñéndose más en los polos, lo que da como resultado una tinción bipolar, que es más notoria con tinción de Giemsa y Wright.<sup>9,21</sup> Crece en medios enriquecidos como agar sangre, agar chocolate y agar Müller-Hinton,<sup>3,22</sup> formando colonias lisas de 1–2 mm de diámetro, de un color gris azulado brillante, no hemolíticas y en ocasiones mucosas. Su crecimiento se presenta después de 18 a 24 h de incubación en un rango de temperatura que va de los 25 a 40 °C, siendo la óptima a 37°C. No crece en agar MacConkey. A la observación en microscopio, pueden aparecer sueltos o agrupados en parejas o cadenas cortas.<sup>23</sup> Puede crecer en condiciones aeróbicas, anaeróbicas y microaerofílicas. No esporula y es inmóvil.<sup>8-10, 14,24</sup>

Para diferenciar de entre los tres grupos de *P. multocida* a *P. multocida* subs. *septica*, se hace uso de las características bioquímicas de cada una de ellas, mismas que se describen en el cuadro 2.

Cuadro 2.- Pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de *Pasteurella multocida*.

PRUEBA / GRUPO	<i>P. multocida</i> subs. <i>septica</i>	<i>P. multocida</i> subs. <i>Gallicida</i>	<i>P. multocida</i> subs. <i>multocida</i>
Ornitina	+	+	+
Indol	+	+	+
Ureasa	-	-	-
Trehalosa	+	-	D*
Maltosa	-	-	-
Xilosa	+	+	D*
Arabinosa	-	D*	-
Manitol	+	+	+
<b>Sorbitol</b>	-	+	+
<b>Dulcitol</b>	-	+	-

Fuente: DABO SM *et al.* (2007), CARTER (1994) y SHARON HG *et al.* (2001)

\* Dependiente

### **Métodos de identificación para *P. multocida subs. septica***

La identificación de *P. multocida* a nivel clínico es a menudo difícil, consume mucho tiempo y es complicada, ya que requiere el procesamiento de varias pruebas bioquímicas, por lo que el diagnóstico de este agente solo se hace, en la mayoría de los casos, por los signos clínicos que se presenten. Estas pruebas se realizan con base en cualidades fenotípicas; sin embargo, las condiciones del cultivo pueden influir en la expresión de algunas características, como la morfología, fermentación de carbohidratos y propiedades serológicas, y con ello disminuir la sensibilidad y especificidad de los métodos basados en estas características.<sup>13, 19, 20</sup>

La hemoaglutinación indirecta (HAI) fue la primera prueba que se realizó para la identificación de los grupos capsulares de *P. multocida*, la cual enfrenta complicaciones por las dificultades en la preparación del antisuero y los antígenos específicos para los diferentes serogrupos, además de posibles reacciones cruzadas de *P. multocida* con algunas bacterias Gram negativas como *Neisseria catarrhalis* y *Yersinia pseudotuberculosis*, entre otras, que pueden estar presentes como flora normal o transitoria en los animales pudiendo sensibilizarlos.<sup>13, 19</sup>

Para el reconocimiento de los grupos capsulares A y D Carter (1967) propuso dos técnicas no serológicas, la técnica de hialuronidasa para identificar el grupo capsular A, que se basa en la despolimerización de la cápsula del ácido hialurónico al estar en contacto con una cepa de *Staphylococcus aureus* productora de hialuronidasa y la floculación por acriflavina para identificar el grupo capsular D.<sup>23, 24</sup>

Una forma de poder identificar a *P. multocida subs. septica*, es mediante pruebas bioquímicas, que se basan en la utilización de ciertos compuestos, entre ellas destacan las pruebas de fermentación de sorbitol y dulcitol como se describen en el cuadro 2. En la actualidad se han desarrollado kits con las mismas pruebas bioquímicas, pero de fácil aplicación como el sistema API 20NE<sup>25</sup> el cual se ha empleado como herramienta en la

identificación de enterobacterias y no enterobacterias en medicina veterinaria, con resultados muy satisfactorios en cepas de *P. multocida* y *M. haemolytica*.<sup>20</sup>

El sistema API es capaz de identificar con precisión *P. multocida* con un 64% menos del tiempo en comparación con otros sistemas como Oxi/Ferm; el porcentaje de errores de identificación es de sólo 10% en los aislamientos de *P. multocida*.<sup>20</sup>

Las pruebas fenotípicas proveen limitada información e insuficiente caracterización en la realización de estudios epidemiológicos que requieren de la adecuada diferenciación de aislamientos fenotípicamente similares. En las últimas décadas, las técnicas de caracterización genómica han complementado o reemplazado métodos de tipificación tradicional debido a que poseen mayor versatilidad, facilitan la identificación y una rápida detección de organismos, la determinación de su posición taxonómica y la investigación de la relación genética intra-especies. Los enfoques moleculares tales como la hibridación de ADN y la amplificación del ácido nucleico, han permitido la detección bacteriana directamente de muestras clínicas, reduciendo dramáticamente el tiempo requerido para la identificación.<sup>19</sup> La más utilizada en la actualidad para la identificación de *P. multocida* subs. *septica* es la PCR fingerprinting. La PCR fingerprinting se basa en amplificación de ADN polimórfico, a través de la selección específica de los sitios de hibridación de los cebadores. Las diferencias en la distancia entre los sitios de unión al cebador o la existencia de estos sitios conducen a la síntesis de fragmentos de ADN amplificados (amplímeros) que difieren en longitud. Estas diferencias pueden ser detectadas por procedimientos simples, tales como electroforesis en gel o cromatografía.<sup>26, 27, 28, 29</sup>

### **Importancia en salud pública**

*P. multocida* subs. *septica*, es un agente zoonótico que representa un problema de salud pública; los casos de infecciones por *P. multocida* subs. *septica* de los que se tiene información son escasos y se han originado en Estados Unidos de America (EUA) a partir de la década de los 60's. Aunque en muchos de los casos, no se habla explícitamente de *P. multocida* subs. *septica* como agente causal de la enfermedad, el cuadro clínico que se señala y la forma de infección corresponde a esta bacteria.<sup>28</sup>

En EUA se estima que este problema constituye el 1% de los casos de urgencia que se registran en las unidades de salud pública. La población que más se ve afectada por este tipo de problemas, son individuos entre los 5-14 años de edad. El riesgo de infección por mordeduras de perros varía entre el 2% y el 29%, mientras que el riesgo de infección por mordedura de gato se estima de entre 28-80%. En el 40% de los casos en los que se desarrolla enfermedad se presentan abscesos, en el 20% de los casos se desarrolla linfangitis y 10% de los afectados puede desarrollar adenopatía regional.<sup>5</sup>

Generalmente, el humano adquiere la infección por inoculación directa, por arañazos o mordeduras de animales, especialmente de gatos y perros respectivamente. Con menor frecuencia, se producen infecciones de heridas abiertas, no causadas por mordedura, sino por contacto con secreciones de animales. *P. multocida* subs. *septica*, es la causa más frecuente de infección de heridas producidas por mordedura de gato; sin embargo, en heridas por mordeduras de perros las principales causas de infección son *Staphylococcus aureus* y diferentes especies del género *Streptococcus*, siguiéndoles en frecuencia *P. multocida* subs. *septica*.<sup>7</sup>

Cuando se presenta enfermedad por *P. multocida* subs. *septica*, causa infección de piel y tejidos blandos, tras mordeduras o arañazos, que son las formas de presentación más frecuente.<sup>29,30</sup> Se caracteriza por el rápido desarrollo de una celulitis, con posible formación de abscesos y drenaje purulento o serosanguinolento por la herida. Por inoculación directa o por extensión, pueden afectarse huesos y articulaciones originando osteomielitis y artritis séptica, aunque estas complicaciones son raras. Se han descrito infecciones óseas y articulares por diseminación hematológica, especialmente en pacientes con artritis reumatoide, prótesis articulares, pacientes en tratamiento con corticoesteroides e inmunosuprimidos. En los casos más graves, se ha encontrado que la infección puede llegar a provocar casos de meningitis. Por la forma anatómica de los dientes del gato, los cuales pueden penetrar con mayor facilidad y profundidad en tejido, es frecuente encontrar casos de osteomielitis, artritis y tendosinovitis.<sup>3, 5, 7,13,14,24,29,31,32</sup>

Las infecciones respiratorias siguen en frecuencia a las infecciones de las heridas. La neumonía es la forma más frecuente de presentación y más del 90% de los casos ocurren en pacientes con patología pulmonar subyacente como pueden ser la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) y las bronquiectasias.<sup>5,33</sup>

Acha (2001), cita un estudio hecho por Ewing y colaboradores realizado en EUA, en el que refieren que de 20 casos de osteomielitis con artritis séptica, 10 se produjeron por mordedura de gato, 5 por perro, 1 de perro y gato y 4 sin exposición conocida.<sup>3</sup>

En un estudio realizado por Chen y colaboradores en Baltimore, EUA, encontraron que los gatos son los que mayor colonizados están por *P. multocida* (50-90%), siguiéndole los perros (50-66%).<sup>4</sup>

Boerlin (2000), reporta un caso en la zona rural de Suiza, donde un individuo de un mes de edad ingresó a los servicios médicos con fiebre, irritabilidad y ligero aumento en la presión intracraneal, el diagnóstico se realizó mediante pruebas de laboratorio como API20 NE y se aisló a *Pasteurella multocida* subsp. *septica*, como agente causal de la enfermedad.<sup>34</sup>

Esta bacteria al ser un agente común en perros y gatos, supone un riesgo de salud pública para el humano, ya que existe un estrecho contacto con estos animales, como mascotas, callejero o semicallejero. Aunado a esto, el poco seguimiento de casos por agresiones y la nula identificación del agente, hace que no se haya determinado correctamente la importancia de este microorganismo en las infecciones sistémicas o locales por mordedura.

## **JUSTIFICACIÓN**

La importancia de este microorganismo como agente zoonótico, la nula investigación en México, la falta de información de casuística en humanos en México, así como la escasa información respecto a presencia o frecuencia de este tipo de microorganismos hace necesaria esta investigación.

## **OBJETIVOS.**

### **Objetivo General**

Determinar la frecuencia de *Pasteurella multocida subsp. septica* en perros y gatos capturados en la vía pública y de donación que se encuentren en el Centro de Control Canino (CENCOCAN) de Tlalpan, México, D.F.

### **Objetivos Específicos**

- Identificar la presencia de *Pasteurella multocida*, mediante la siembra de hisopados en agar sangre, provenientes de perros y gatos capturados en vía pública y de donación que se encuentren en el CENCOCAN de la delegación Tlalpan.
- Identificar la presencia de *Pasteurella multocida*, mediante el microsistema API 20 NE en la población objetivo.
- Tipificar los aislamientos de *Pasteurella multocida subsp. septica*, mediante la prueba de fermentación de D-sorbitol y dulcitol en las cepas identificadas como *Pasteurella multocida*.
- Tipificar los aislamientos de *Pasteurella multocida subsp. septica*, mediante la prueba de PCR fingerprinting en la población sujeta a estudio.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

El estudio que se realizó fue de tipo observacional, descriptivo, prospectivo y transversal.<sup>35</sup>

### **Diseño de muestreo.**

El muestreo realizado fue de tipo no probabilístico de juicio. Las unidades de observación estuvieron constituidas por perros (n=100) y gatos (n=100) capturados en vía pública y de donación del CENCOCAN de Tlalpan.



**Ubicación temporal y espacial.**

La delegación Tlalpan se ubica al sur del Distrito Federal en las coordenadas al norte 19°19', al sur 19°05' de latitud norte; al este 99°06', al oeste 99°19' de longitud oeste.

Colinda al norte con las demarcaciones Magdalena Contreras, Álvaro Obregón y Coyoacán; al este con Xochimilco y Milpa Alta, en el Distrito Federal; al sur con el municipio de Huitzilac, estado de Morelos; al oeste con Santiago Tianguistenco, (Estado de México) y la delegación Magdalena Contreras.

Representa el 20.7% de la superficie del Distrito Federal, con una superficie de 31,162.3 has.<sup>36</sup>

Al noreste de la delegación en la calle de Becal Mz 98, lote 22, Col. Lomas de Padierna se encuentra el Centro de Control Canino, el cual tiene como objetivo controlar mediante campañas zoonosanitarias y programas de educación para la salud, las enfermedades zoonóticas que puedan afectar a los habitantes de dicha delegación.

**Origen y toma de muestra.**

Las muestras se obtuvieron de animales sacrificados en el área de necropsias del CENCOCAN, estas se tomaron con hisopos estériles con medio de transporte Stuart de la cavidad oral de perros y gatos que hubieran sido capturados o donados al CENCOCAN de la Delegación de Tlalpan y que no fueran reclamados después de 72 h. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de investigación del Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

**Aislamiento de *P. multocida***

Los hisopados se sembraron en agar sangre al 5% mediante estría continua y se incubaron a 37°C de 18- 24 h. Pasado el tiempo de incubación, se seleccionaron las colonias que mostraron características morfológicas similares a *P. multocida*: redondas, color azul-grisáceo, mucoides y sin presencia de hemolisis, para ser resembradas en agar sangre al 5%. Estas colonias se incubaron en las condiciones antes mencionadas, para obtener un

cultivo puro. Los aislados obtenidos de estas resiembras se tiñeron con Gram, para confirmar cocobacilos Gram-negativos.

### **Identificación bioquímica de *P. multocida***

La identificación bioquímica de las cepas que tuvieron un resultado positivo a la tinción de Gram, se realizó mediante el microsistema API 20NE\* La prueba consta de una galería de 20 microtubos; 8 ensayos enzimáticos y 12 ensayos de asimilación (cuadro 3). Esta prueba se realizó conforme a las especificaciones del fabricante.

Se trabajó con cepas con 24 h de incubación; para la inoculación de los ensayos enzimáticos, se tomó una asada del cultivo bacteriano y se resuspendió en 5 mL de medio estéril, hasta obtener una turbidez de 0.5 en la escala de MacFarland, posteriormente se inocularon en los micortubos de la prueba sin llegar a las crestas de los ensayos de NO<sub>3</sub> (reducción de nitritos) a al PNPG (4-nitrofenil-βD-galactosidasa).

Por su parte para la inoculación de las pruebas de asimilación, se tomaron 200 μL de la solución salina bacteriana preparada previamente transfiriéndose a un medio enriquecido API AUX y se homogeneizó, posteriormente se inocularon los tubos y las crestas de los microtubos con esta solución hasta formar un pequeño menisco convexo. Se sellaron con aceite mineral las cúpulas de los ensayos de GLU (D-glucosa), ADH (L-arginina) y URE (urea), para asegurar condiciones de anaerobiosis. La galería fue incubada a 29°C y se realizaron lecturas a las 24 y 48 h, anotando los resultados en los formatos proporcionados por el fabricante. Después de la lectura de 48 h, se analizaron los datos en el software API WEB (proporcionado por el fabricante) para determinar el género y especie bacteriana de la muestra.

---

\* bioMérieux sa F-69280 Marcy l'Etoile, France

Cuadro 3.- Ensayos y componentes activos de la prueba de API 20 NE

ENSAYO	COMPONENTES ACTIVOS
NO <sub>3</sub>	Nitrato potásico (reducción de nitratos en nitritos)
TRP	L-triptofano
GLU	D-glucosa
ADH	L-arginina
URE	Urea
ESC	Esculina (citrato férrico)
GEL	Gelatina
PNPG	4-nitrofenil-βD-galactosidasa
GLU	D-glucosa
ARA	L-arabinosa
MNE	D-manosa
MAN	D-manitol
NAG	N-acetil-glucosamina
MAL	D-maltosa
GNT	Gluconato potásico
CAP	Ácido cáprico
ADI	Ácido adípico
MLT	Ácido málico
CIT	Citrato trisódico
PAC	Ácido fenilacético
OX	Oxidasa

### Fermentación de D-sorbitol y Dulcitol

Esta prueba fue realizada a los cultivos positivos a la prueba de API 20NE, para lo cual, se trabajó con cultivos con 24 h de incubación. Se tomó una asada del cultivo bacteriano y se inoculó en medios enriquecidos, uno con D-sorbitol (0.2 %) y otro con Dulcitol (0.1 %), se incubaron a 29°C y se hicieron lecturas a las 24 y 48 h, buscando algún cambio en la coloración original de los medios. Aquellas muestras que sufrieron algún cambio de coloración, se consideraron como negativas para *P. multocida* subs. *septica*.<sup>29</sup>

## **RESULTADOS**

### **Identificación morfológica de cepas de *P. multocida***

#### **Perros**

De un total de 100 muestras procesadas se recuperaron 36 aislamientos (36%) con morfología característica de *P. multocida* (redondas, azul-grisáceas, mucoides, sin presencia de hemólisis). Posteriormente se realizó la tinción de Gram y de los 36 aislados 32 (89%) correspondieron a cocobacilos Gramnegativos.

#### **Gatos**

De un total de 100 muestras procesadas se recuperaron 21 aislamientos (21%) con morfología característica de *P. multocida* (redondas, azul-grisáceas, mucoides, sin presencia de hemólisis). Posteriormente se realizó la tinción de Gram y de los 21 aislados 13 (62%) correspondieron a cocobacilos Gramnegativos.

### **Identificación bioquímica de las cepas mediante API 20NE**

#### **Perros**

Las 32 muestras positivas a la tinción de Gram fueron sometidas para la identificación de género y especie al microsistema comercial API 20NE y de acuerdo a los valores establecidos en el software API WEB, el 3.12 % (1/32) mostró un resultado positivo a *P. multocida* con una identificación de 66.5 % y una tipicidad de 0.84 %. (cuadro 4).

**Cuadro 4.- Perfil bioquímico de muestras provenientes de cavidad bucal de perros para la determinación de *P. multocida* subs. septica.**

<b>PRUEBAS BIOQUÍMICAS</b>	<b>% DE POSITIVOS</b>
Reducción de nitratos a nitritos	52
Triptófano	25
D-glucosa	8
L-arginina	25
Urea	58
Esculina	28
Gelatina	25
D-manosa	14
D-manitol	48
N-acetil-glucosamina	58
D-maltosa	98
Gluconato potásico	98
Ácido cáprico	25
Ácido adípico	47
Ácido málico	24
Citrato trisódico	45
Ácido fenilacético	55
Hemólisis	44
Oxidasa	98

### **Gatos**

Las 13 muestras positivas a la tinción de Gram fueron sometidas al microsistema comercial API 20NE para la identificación de género y especie. En todas las muestras analizadas se obtuvo resultado negativo a la prueba (cuadro 5).

**Cuadro 5.- Perfil bioquímico de muestras provenientes de cavidad bucal de gatos para la determinación de *P. multocida* subs. *septica*.**

<b>PRUEBAS BIOQUÍMICAS</b>	<b>% DE POSITIVOS</b>
Reducción de nitratos a nitritos	100
Triptófano	0
D-glucosa	10
L-arginina	100
Urea	100
Esculina	100
Gelatina	100
D-manosa	87
D-manitol	84
N-acetil-glucosamina	54
D-maltosa	21
Gluconato potásico	23
Ácido cáprico	87
Ácido adípico	88
Ácido málico	58
Citrato trisódico	74
Ácido fenilacético	89
Hemólisis	25
Oxidasa	98

### **Prueba de fermentación de D-sorbitol y Dulcitol**

#### **Perros**

La muestra que obtuvo resultado positivo a la prueba de API 20 NE, se sometió a las pruebas de fermentación de D-sorbitol y Dulcitol para llevar a cabo la identificación final y determinar si la muestra era positiva a *P. multocida* subs. *septica*. La muestra analizada se inoculó en medios de cultivo enriquecidos con los componentes antes mencionados, buscando que no hubiera cambio de coloración en el color original de los medios. La muestra cambió de coloración dando un resultado negativo a *P. multocida* subs. *septica* y positivo a *P. multocida* subs. *gallicida*.

#### **Gatos**

Esta prueba no se realizó debido a la negatividad a la prueba de API 20 NE.

### **Identificación molecular por medio de la prueba de PCR fingerprinting**

#### **Perros**

Esta prueba no se llevó a cabo debido a la negatividad de la prueba de fermentación de D-sorbitol y Dulcitol.

#### **Gatos**

Esta prueba no se llevó a cabo debido a la negatividad de a la prueba de API 20NE.

### **DISCUSIÓN**

Las enfermedades causadas por *P. multocida* son de gran importancia a nivel mundial, ya que afectan a las diferentes especies de producción causando grandes pérdidas económicas, además, este microorganismo se considera un patógeno zoonótico que involucra una variedad de infecciones en humanos (Keherenberg et al, 2001). En este sentido, entre las especies de *P. multocida* destaca *Pasteurella multocida* subs. *septica* la cual se ha demostrado que es agente causal de enfermedad en seres humanos.<sup>20</sup>

Las mordeduras de perros y gatos constituyen un problema de salud pública global, desafortunadamente en México no existen registros al respecto, no obstante, en países como EUA donde si se tienen, se estima que éstas ocasionan el 1% de las consultas en los servicios de urgencia hospitalarios.<sup>5</sup>

De acuerdo con Chen se ha podido demostrar que la más alta tasa de colonización orofaríngea por *P. multocida* la presentan los gatos (50-90%), seguida de los perros (50-66%), cerdos (51%) y ratas (14%), lo cual implicaría que la mayor probabilidad de aislar *Pasteurella* sería a partir de mordedura de gato en comparación con la de perro, no obstante hay que considerar que son más frecuentes las mordeduras de estos últimos. Por otra parte, se ha comprobado la asociación entre la presentación clínica y el grupo taxonómico ( $p < 0.05$ ), de tal manera, que *Pasteurella multocida* subs. *septica* se asocia

más con heridas que con infecciones respiratorias y *Pasteurella multocida* subs. *multocida* se asocia más con infecciones respiratorias que con heridas.<sup>4</sup>

No obstante lo descrito en los anteriores párrafos, en el presente estudio no fue posible lograr el aislamiento de *P. multocida* subs. *septica* de cavidad oral de perros y gatos como era el objetivo. Ciertamente en el país no existen estudios previos similares que pudieran servir como base de análisis; sin embargo, es posible contrastar con investigaciones realizadas en otros países, la mayoría de ellas con muestras obtenidas en humanos por heridas ocasionadas por perros o gatos.

De acuerdo con diversos autores, los nichos ecológicos de las diferentes especies de *Pasteurella* son tan variados como sus posibles diferencias en su patogenicidad y en el caso de *P. multocida* subs. *multocida* y *P. multocida* subs. *septica* es más frecuente recuperarlas de los casos más graves de heridas infectadas, incluso de bacteriemia. De esta manera, mientras que *P. multocida* subs. *multocida* puede ser aislada de lesiones ocasionadas por perros y gatos, *P. multocida* subs. *septica* está más asociada a heridas ocasionadas por gatos, en este sentido, cabe resaltar que entre los factores que inciden en el riesgo de infección se encuentran la edad y salud de la cavidad oral del gato, el tipo y extensión de la lesión, ubicación de la herida, la demora en solicitar atención médica y algunas características inherentes al paciente, en especial la condición inmunológica; adicionalmente, algunos autores sugieren que este microorganismo, en comparación con otras especies de *Pasteurella* posee una afinidad preferencial por el sistema nervioso central.<sup>5, 29, 37, 38</sup>

Biberstein *et al*, entre 1986 y 1990 con muestras obtenidas del Servicio de Microbiología del Hospital Veterinario de la Universidad de California, USA, estudiaron 356 aislamientos de *P. multocida* de diferentes especies animales. El taxón más prevalente fue *P. multocida* subs. *multocida* (37%) presente casi en todas las especies, excepto en perros, entre los cuales predominó *P. multocida* subs. *canis* la cual se aisló en un 22%. *P. multocida* subs. *septica* se aisló en un 6.7% y mostró un claro predominio en gatos. El resto de



aislamientos fueron: *P. multocida* subs. *stomatidis* 6.2%, *P. multocida* sp (0.8%) *P. multocida* subs. *gallicida* (0.6%) y el 26% restante fueron no tipificables.<sup>38</sup>

Leotta *et al*, en Argentina, estudiaron 30 cepas de *P. multocida* de origen humano y animal, 3 (10%) de las cepas fueron *P. multocida* subs.*septica*, dos de heridas en humanos y una de cólera aviar; Stephanie y *et al*. en un estudio retrospectivo de 1987 a 2001, en 20 pacientes de un Hospital Militar de Santiago de Chile, 14 de ellos con antecedentes de contacto o mordedura por perro o gato lograron 18 aislamientos de *P. multocida* spp.<sup>15</sup>

Talan *et al*, en un estudio prospectivo (1994-1995 ) realizado en 18 departamentos de emergencia de hospitales veterinarios de USA, obtuvieron muestras de heridas infectadas de 50 pacientes mordidos por perros y 57 por gatos; entre las mordeduras de perros predominó *P. canis* (26%) y sólo el 10% fue *P. multocida* subs.*septica*, mientras que en las mordeduras por gatos predominaron *P. multocida* subs. *multocida* (54%) y *P. multocida* subs. *septica* (28%).<sup>39</sup>

Chen *et al*, caracterizaron 20 cepas de *P. multocida* obtenidas entre 1985 y 2002 del Centro Médico de Veteranos de Houston, Texas, USA, que habían sido aisladas de diferentes sitios anatómicos, de las cuales 14 correspondieron a *P. multocida* subs. *multocida* y 6 fueron *P. multocida* subs. *septica*. El 91% de las cepas causantes de infecciones respiratorias eran *P. multocida* subs. *multocida*, en contraste, 4 de las 6 cepas de *P. multocida* subs. *septica* se aislaron de infecciones de heridas y sólo una de un caso de neumonía.<sup>4</sup>

Sharon *et al*, en el Centro Médico de la Universidad de California, USA, estudiaron 35 cepas de *P. multocida* obtenidas de heridas infectadas infligidas por perros (4) y por gatos (31), mediante diferenciación por PCR y actividad alfa-Glucosidasa. El 68.5% fueron *P. multocida* subs. *septica*, el 11% *P. multocida* subs. *multocida* y 20% restante *P. multocida* spp.<sup>29</sup>

Durante un periodo de tres años, Holst *et al*, en el Laboratorio de Microbiología Clínica de la Universidad de Lund, Suecia, estudiaron 159 cepas de *P. multocida* recuperadas de

humanos infectados, y lograron caracterizar el 59.7% como *P. multocida* subs. *multocida*, 13% *P. multocida* subs. *septica*, 17.6% *P. multocida* subs. *canis*, 6.2% *P. multocida* subs. *stomatis*, 3% *P. multocida* subs. *dagmatis*. Llama la atención que en el caso de *P. multocida* subs. *septica* se aisló de líquido cefalorraquídeo de un paciente con meningitis y de 20 pacientes con heridas infectadas o con abscesos, todos asociados con mordeduras, rasguños o lameduras de gatos; y todos los aislamientos de *P. multocida* subs. *canis* estuvieron asociados a mordeduras por perros.<sup>37</sup>

Es de llamar la atención, que en el presente trabajo se logró aislar *P. multocida* subs. *gallicida* de una muestra procedente de perro. En este sentido, Ekundayo *et al* y Leotta *et al* describen aislamientos de *P. multocida* subs. *gallicida* en especies diferentes a las aves de corral, tales como ovinos, porcinos y felinos. No obstante lo anterior, consideramos que un solo aislamiento no es concluyente, ya que hay que considerar que las condiciones de cultivo pueden influir en la expresión de las propiedades de la bacteria y con ello disminuir la especificidad y sensibilidad de los métodos basados en las características fisicoquímicas, bioquímicas y fenotípicas del agente.<sup>14, 20</sup>

## CONCLUSIONES

- No fue posible demostrar la presencia de *P. multocida* subs. *septica* a partir de las muestras obtenidas de cavidad oral de perros y gatos, lo cual puede deberse al origen de las muestras, ya que la mayor parte de los estudios refieren que la procedencia de las muestras fue a partir de heridas de humanos.
- Con base en la literatura consultada es más probable aislar *P. multocida* subs. *septica* de heridas humanas que de cavidad oral de animales.
- Con base en la literatura consultada, *P. multocida* subs. *septica* es más probable aislarla de heridas infligidas por gatos que por perros.
- Con base en la literatura es más probable aislar *P. multocida* subs. *canis* en heridas infligidas por perros.

## BIBLIOGRAFIA

1. BLANK HIJ. El Maravilloso Mundo del Perro. México: Trillas, 1994.
2. BLANK HIJ. Nuestro Gato. México: Trillas, 1995.
3. ACHA PN. Zoonosis y Enfermedades Comunes al Hombre y los Animales. 3° ed., vol. 1. EUA: OPS, 2001.
4. CHEN HI. HULTEN K. CLARRIDGE III JE. Taxonomic Subgroups of *Pasteurella multocida* Correlate with Clinical Presentation. *Journal Clinical Microbiology* 2002; 40: 3438–3441.
5. MARTINEZ MA. Microorganismos asociados a infecciones por mordeduras de perros y gatos, disponible en <http://www.patologiaveterinaria.cl/Monografias/MEPAVET1-2005/PDF/MEPAVET07.pdf>, citado en agosto 2013.
6. GOLDSTEINE JC, CITRON DM, MERRIAM CV, WARREN Y, TYRRELL K. Comparative In Vitro Activities of GAR-936 against Aerobic and Anaerobic Animal and Human Bite Wound Pathogens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2000; 44: 2747-2751.
7. DE CUETO LM. PASCUAL HA. *Pasteurella multocida*, disponible en [http://www.seimc.org/control/revi\\_Bacte/pmultocida.htm](http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/pmultocida.htm), citado en septiembre 2010.
8. DAVID J. WOLFSON, JS. MORTON N. *Pasteurella multocida* Infections: REPORT OF 34 CASES AND REVIEW OF THE LITERATURE. 1984; 63: 133-154.
9. DAVIES RL. MACCORQUODALE R. REILLY S. Characterisation of bovine strains of *Pasteurella multocida* and comparison with isolates of avian, ovine and porcine origin. *Veterinary Microbiology* 2004; 99: 145-158.
10. DABO SM. TAYLOR JD. CONFER AW. *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease, *Animal Health Research* 2007; 8:129-156.
11. DWIGHT CH. *Veterinary Microbiology*. USA: Blackwell Publishing, 2004.
12. EWERS CH. LÜBKE-BECKER A. Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. *Veterinary Microbiology* 2005; 114: 304-317.
13. KUHNERT P, BOERLIN P, ELMER S, KRAWINKLER M, FREY J. Phylogenetic analysis of *Pasteurella multocida* subspecies and molecular identification of feline *P. multocida* subsp. *septica* by 16s rRNA gene sequencing. *Journal Medicine of Microbiology* 2000; 290: 599-604.

14. CARTER. Bacteriología y Micología Veterinaria, aspectos esenciales. México: Manual Moderno, 1994.
15. LEOTTA GA, VIGO GB, CHINEN I. Identificación, biotipificación y caracterización de cepas de *Pasteurella multocida* aisladas en la Argentina. Revista Argentina de Microbiología 2006; 38.
16. BOYCE JD, ADLER B. The Capsule Is a Virulence Determinant in the Pathogenesis of *Pasteurella multocida* M1404 (B:2). Infection and Immunity 2000; 68: 3463-3468.
17. SELEIM RS. Review: Major pathogenic components of *Pasteurella multocida* and *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* isolated from animal origin. Disponible en <http://www.priory.com/vet7pasteurella.htm>. Citado 2010.
18. LOPEZ JM. Factores de Patogenicidad Bacteriana. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. Disponible en <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/patogenicidad.html>. Citado 2012
19. CAMPUZANO VM, Identificación Molecular de los Serogrupos Capsulare A y D de *Pasteurella multocida* en Bovinos de la Cuenca Lechera de Tizayuca México, Mediante PCR Múltiple, tesis de licenciatura, UNAM, México, 2007.
20. VILLEGAS AL, Caracterización de los Tipos Capsulares de *Pasteurella multocida* en Exudado Faríngeo de Bovinos Productores de Carne Clínicamente Sanos en el Estado de Querétaro, tesis de licenciatura, UNAM México, 2013.
21. HAGAN. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos, México: Fournier, 1977.
22. LOUBINOUX J. LOZNIOWSKI A *et al.* Value of Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR for Study of *Pasteurella multocida* Strains Isolated from Mouths of Dogs, Journal Clinical Microbiology 1999; 37: 2488–2492.
23. MEDWAY. Patología Clínica Veterinaria. México: UTEHA, 1986.
24. MYRUIK. Fundamentals of Medical Bacteriology and Mycology, USA: Lea and Fibiger, 1988.
25. COLLINS MT, WEAVER N, ELLIS RP. Identification of *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica* by API 20E, Minitek, and Oxy/ferm systems. Journal of clinical microbiology 1981; 13:433-437.
26. VAN BELKUM A. DNA Fingerprinting of Medically Important Microorganisms by Use of PCR. Clinical Microbiology Review 1994; 7 (2): 174-184.
27. DABO SM, DEBEY BM, MONTELONGO M, CONFER W. Genomic DNA restriction site heterogeneity in bovine *Pasteurella multocida* serogroup A isolates detected with rRNA probe. J. Med Microbiol 1999; 48: 279-286.

28. HUBBERT TW, ROSEN NM. *Pasteurella multocida* Infection Due to Animal Bite. Am J Public Health Nations Health. 1970; 60: 1103–1108.
29. SHARON HG, DIANE MC. *Pasteurella multocida* subsp *multocida* and *P. multocida* subsp. *septica* Differentiation by PCR Fingerprinting and  $\alpha$ -Glucosidase Activity. Journal Of Clinical Microbiology 2001; 39: 2558-2564.
30. HENRIK C, MAGNE B, *et al.* Characterization of Sucrose-Negative *Pasteurella multocida* Variants, Including Isolates from Large-Cat Bite Wounds. Journal Of Clinical Microbiology 2005; 43: 259–270.
31. CAMPOS FJ, LÓPEZ RR. Anales de Medicina Interna v.25 n.7. España: 2008.
32. KRAVETZ JD, FEDERMAN DG. Cat-Associated Zoonoses. Archives Internal Medicine 2002; 162:1945-1952.
33. WEBER DJ, WOLFSON JS, SWARTZ MN, HOOPER DC. *Pasteurella multocida* infection. Report of 34 cases and review of the literature. Medicine (Baltimore) 63: 133-154.
34. BOERLIN P, SEIGRIST HH, BURNENS PA, KUHNERT P, MENDEZ P, PRETAT G, HEINHARD R, NICOLET J. Molecular Identification and Epidemiological Tracing of *Pasteurella multocida* Meningitis in a Baby. Journal of Clinical Microbiology 2000; 28:1235-1237.
35. JARAMILLO ACJ, MARTINEZ MJJ. Epidemiología Veterinaria. México: Manual Moderno, 2010.
36. Cuaderno Estadístico Delegacional de Tlalpan, Distrito Federal 2008, INEGI, disponible en [http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/soc/int/nav/cem/08/df/m012/c09012\\_01.xls](http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/soc/int/nav/cem/08/df/m012/c09012_01.xls), citado en agosto de 2010.
37. HOLST E, ROLLOF J, LARSSON L, NIELSEN JP. Journal of Clinical Microbiology 1992; 30: 2984.
38. BIBERSTEIN EL, JANG SS, KASS PH, DWIGHT CH, Distribution of indole-producing urease-negative Pasteurellas in animals. Journal Veterinary Diagnostic Investigation 1991; 3:319-323.
39. TALAN DA, CITRON DM, ABRAHAMIAN FM. Bacteriologic Analysis of Infected Dog and Cat Bites. The New England Journal of Medicine 1999; 340 num. 2, pag 85-92.