

# Agentes microbianos presentes en cloacas de tortugas patas rojas (*Geochelone carbonaria*) en un herpetario del estado de Yucatán

José Manuel Mukul Yerves,<sup>1\*</sup> José Alberto Rosado Aguilar,<sup>1</sup>  
Ana María Rejón Magaña,<sup>1</sup> Edwin José Gutiérrez Ruiz,<sup>1</sup>  
Alfredo Luna Casas<sup>2</sup> y Lucas Miguel Zavala Escalante<sup>2</sup>

**Resumen.** Los reptiles son altamente demandados como mascotas y se adquieren en el mercado legal e ilegal, un riesgo que representan son las zoonosis hacia las personas que los poseen, en general son reservorios naturales de salmonella, pseudomona y otros agentes, no se realizan monitoreos de las bacterianas en estos animales que transitan de país a país, el objetivo de esta investigación fue identificar agentes microbianos presentes en las cloacas de tortugas *Geochelone carbonaria* en un criadero del estado de Yucatán, México. Se colectaron muestras cloacales de 80 tortugas (30 reproductores, 30 de maternidad y 15 en crecimiento). Se aplicaron técnicas de aislamiento en cultivo puro en medios Agar Sangre y XLT4, pruebas bioquímicas urea, rojo de metilo, SIM (Indol, H<sub>2</sub>S y motilidad), citrato de Simmons, LIA (descarboxilación de la lisina) y TSI (Triple azúcar de hierro), así como de pruebas complementarias tales como oxidasa, catalasa y coagulasa para el cultivo e identificación de los agentes microbianos. Se encontraron los géneros de *Enterobacter* (16.25%), *Klebsiella* (3.75%), *Proteus* (10%), *Pseudomona* (6.25%), *Salmonella* (26.25%), *Serratia* (2.5%), *Shigella* (10%) y *E. coli* (25%). *Salmonella* fue el agente más frecuente, seguido de *E. coli* y *Enterobacter*. *Proteus*, *Pseudomona* y *Serratia* no se encontraron en los reproductores pero si en maternidad y crianza, *Shigella* solo se encontró en reproductores. En conclusión, es importante conocer la microflora presente en estos animales, principalmente cuando el objetivo es la venta, sobre todo por el riesgo zoonótico que representan a la población humana.

**Palabras clave:** Cultivo microbiano; Tortuga morrocoy; Zoonosis.

<sup>1</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán.

<sup>2</sup> Criadero de reptiles Rancho Cacalchen.

\* Autor de correspondencia. e.mail: jose.mukul@correo.uady.mx.

**Abstract.** Reptiles are highly demanded as pets and are acquired in the legal and illegal market, a risk they represent are zoonoses towards the people who own them, in general they are natural reservoirs of salmonella, pseudomonas and other agents, there is no monitoring of the bacteria in these animals that transit between countries, the objective of this research was to identify microbial agents present in *Geochelone carbonaria* tortoises cloacas in a herpetarian in Yucatán, Mexico. Cloacal samples were collected from 80 tortoises (30 breeding, 30 maternity and 15 growing). Isolation techniques were applied in pure culture in Blood Agar and XLT4 media, urea biochemical tests, methyl red, SIM (Indole, H<sub>2</sub>S and motility), Simmons citrate, LIA (lysine decarboxylation) and TSI (Triple iron sugar), as well as complementary tests such as oxidase, catalase and coagulase for the cultivation and identification of microbial agents. Were found the genera of *Enterobacter* (16.25%), *Klebsiella* (3.75%), *Proteus* (10%), *Pseudomona* (6.25%), *Salmonella* (26.25%), *Serratia* (2.5%), *Shigella* (10%) and *E. coli* (25%). *Salmonella* was the most frequent agent, followed by *E. coli* and *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomona* and *Serratia* were not found in broodstock but in maternity and growth, *Shigella* was only found in broodstock. Benites et al., (2013) mention that *E. coli* is the most frequent and *Salmonella* was found less in South America, the other agents are reported to be present in this turtle, except *Pseudomona*. In conclusion, its important to know the microflora present in these reptiles, especially when the objective is to sell them, especially due to the zoonotic risk that they represent to the human population.

**Key words:** Microbial culture; Morrocoy tortoise; Zoonosis.

## INTRODUCCIÓN

La adquisición de ejemplares silvestres como animales de compañía se reporta desde épocas precolombinas, actualmente es más frecuente (Mojica, *et al.*, 2012) por lo general el origen de estos animales proviene del tráfico ilegal de ejemplares sustraídos directamente de su hábitat natural (Hernández y Boade, 2008) o de criaderos debidamente registrados según las normas vigentes del país de origen (CITES, 2022). La familia de los reptiles, conformado por serpientes, saurios, cocodrilos y tortugas acuáticas y terrestres son las especies que presentan una alta demanda en países de Europa y Norteamérica principalmente, los testudines o tortugas terrestres entre los cuales podemos encontrar a la especie *G. carbonaria* (Figura 1) que por lo general está altamente cotizada en el mercado internacional (Turtle Conservation Fund, 2002), el tráfico de esta especie entre los países de origen y los países que los demandan toma relevancia por el riesgo zoonótico con las personas que tiene contacto directo con estos animales, principalmente cuando no existe un control

sobre los agentes microbianos asociados a los animales que funcionan como reservorios naturales para diferentes bacterias o microorganismos (Ruíz, *et al.*, 2010). Agentes como la *Salmonella* y *E. coli* son los causantes de problemas digestivos en los seres humanos y se han reportado junto con otros microorganismos en diferentes especies de reptiles de vida libre como criados en cautiverio (Penagos *et al.*, 2018; Benites, *et al.*, 2013). Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es identificar los principales agentes microbianos asociados a *G. carbonaria* en diferentes etapas de producción en un sistema intensivo de reptiles del estado de Yucatán.

Figura 1. Ejemplar adulto de tortuga patas rojas (*G. carbonaria*) en un sistema productivo intensivo del estado de Yucatán



## MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron tres grupos de tortugas patas rojas mantenidas en cautiverio (reproducción, maternidad y crecimiento) en un criadero intensivo de reptiles del estado de Yucatán “Rancho Cacalchén” con clave de registro INE/CITES/DGVS-CR-IN-0654-YUC./00 ante la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), ubicado en el municipio de Maxcanú en las coordenadas N20.609490, W90.023734, el tipo de clima de la zona es cálido sub húmedo con lluvias en verano y algunas lluvias en temporada inver-

nal Orellana *et al.*, (2010), este herpetario tiene como objetivo del sistema productivo la venta de ejemplares como animales de compañía.

Se colectaron muestras cloacales con un hisopo estéril de 30 ejemplares adultos de un lote de animales en etapa de reproducción, 30 del area de maternidad o menores a los 45 días de eclosionados y 20 del área de crecimiento o crianza (Figura 2), todos los animales fueron muestreados completamente al azar dentro de los lotes mencionados. Cada muestra fue etiquetada con los datos del lote correspondiente y un número correlativo asignado durante la colecta. Los ejemplares adultos se ubican en corrales con temperatura ambiente y piso de tierra, la alimentación de este grupo se realiza con forraje de temporada o rastrojos de vegetales rallados y servidos para consumo *ad libitum*, el grupo de animales del área de maternidad estan confinados en cajas de manera con piso de malla de criba y bajo techo de concreto, la alimentación de este grupo se realiza dos veces al día con calabazas ralladas y ofrecidas para consumo *ad libitum*, por último el lote de crecimiento se encientran en corraletas con piso de concreto y una fosa lineal con agua a 1.5 cm de profundidad, la alimentación es igual al lote de maternidad.

El manejo de sanitario de los ejemplares fue el mismo, durante el periodo de muestreo no se realizó ningún tratamiento farmacológico con los grupos muestreados, la alimentación consistió en forraje de temporada y calabazas picadas.

Las muestras de heces fueron recolectadas con hisopos que se colocaron en un tubo vial con el caldo de enriquecimiento Infusión Cerebro Corazón (BHI). Una vez ingresadas al laboratorio, las muestras, se sembraron en Agar Sangre, Agar Mac Conkey y Agar Base por la técnica de aislamiento en cultivo puro y se incubaron por 24 horas a 37°C. Posteriormente, se realizó la descripción y selección de las colonias bacterianas que se encontraban más homogéneas en cada medio de cultivo. Se les realizó frotis y tinción de gram a las más representativas. En caso de que no se observara crecimiento a las primeras 24 horas, las muestras se incubaron hasta por 96 horas a 37°C. Posterior a la selección de colonias y observación del frotis, las bacterias fueron clasificadas en gram positivas y negativas. Según esta característica se procedió a la inoculación en las pruebas de bioquímicas, la batería de pruebas consistió en urea, rojo de metilo, SIM, citrato de Simmons, LIA y TSI, así como de pruebas complementarias tales como oxidasa, catalasa y coagulasa. La lectura de las bioquímicas se realizó 24 horas después de ser inoculadas e incubadas por 37°C. En base a la interpretación de las pruebas bioquímicas, se estableció la correcta identificación de las especies bacterianas (Ruíz, *et al.*, 2010).

Figura 2. Colecta de muestra cloacal con hisopos de un ejemplar de *G. carbonaria* en etapa de crecimiento



## RESULTADOS

Se encontraron presentes los géneros de *Enterobacter* (16.25%), *Klebsiella* (3.75%), *Proteus* (10%), *Pseudomonas* (6.25%), *Salmonella* (26.25%), *Serratia* (2.5%), *Shigella* (10%) y *E. coli* (25%). *Salmonella*, *E. coli* y *Enterobacter* fueron los que se encontraron en mayores proporciones en los tres lotes a diferentes edades y pesos, mientras que *Serratia*, *Klebsiella* y *Pseudomonas* fueron los menos frecuentes de el total de animales muestreados. Todos los agentes encontrados también los reportan como parte de la microflora presente en las cloacas de en estas tortugas, excepto por *Pseudomonas* (Figura 1).

Las técnicas de cultivo utilizadas en el presente trabajo fueron correctas para la identificación de los agentes microbianos presentes en las cloacas de *G. carbonaria*, la colecta, conservación y procesamiento de las muestras indican que el crecimiento bacteriano en los medios de cultivos fue el adecuado. En la figura 2, se presentan los agentes bacterianos y el total de muestras positivas a los agentes indicados entre diferentes lotes de animales con pesos y edades diferentes. En la figura 4 se muestra el cultivo positivo al género *Proteus* en agar chocolate, mientras que en la figura 5 se presenta el cultivo positivo a *Salmonella* en agar sangre.

Figura 3. Proporción de agentes microbianos identificados en tres diferentes lotes de tortugas patas rojas (*G. carbonaria*)

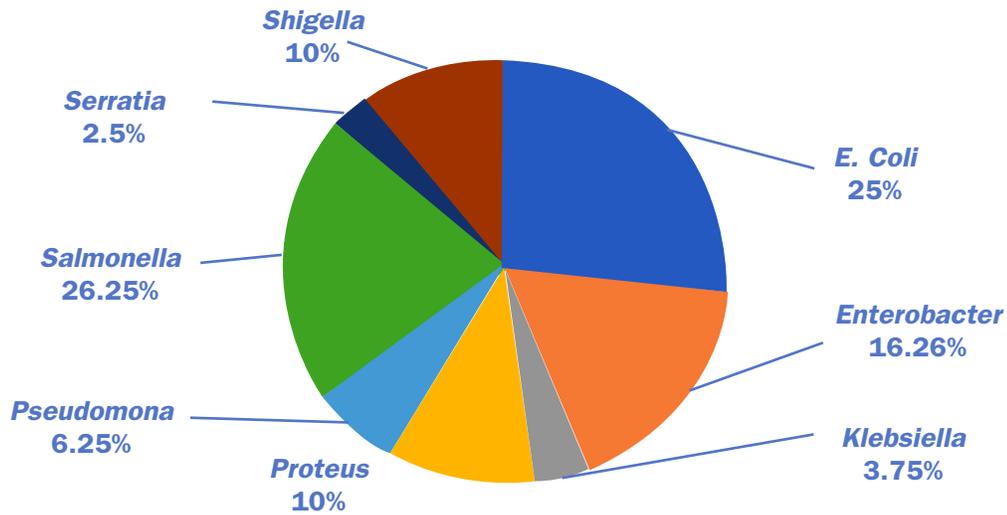


Figura 4. Número de muestras positivas de los agentes microbianos identificados en tres lotes de *G. carbonaria*

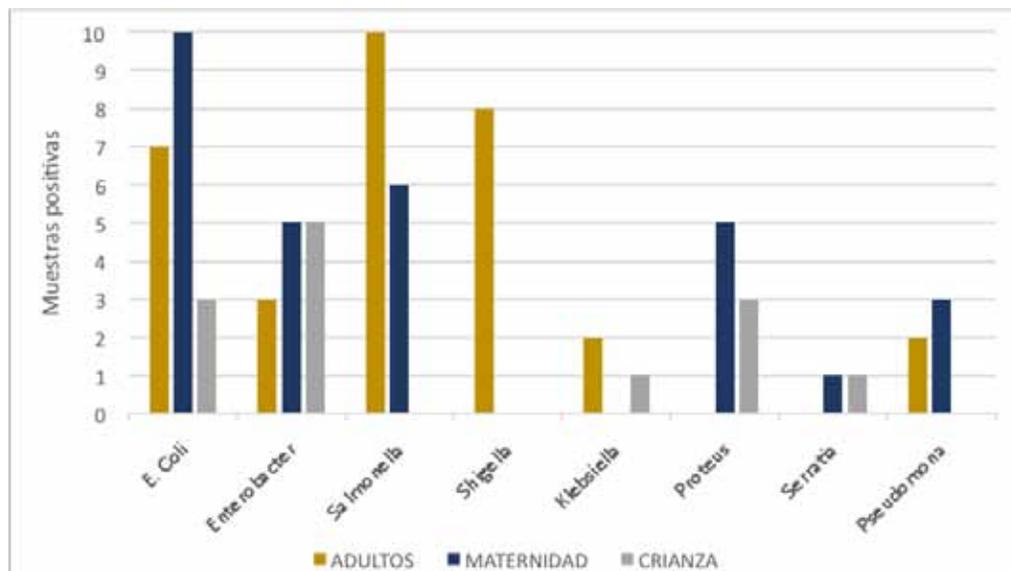


Figura 5. Cultivo positivo de *Proteus* en agar chocolate tomado de muestra cloacal de *G. carbonaria*



Figura 5. Cultivo positivo a *Salmonella* en agar sangre obtenido de muestra cloacal de *G. carbonaria*



El género *Salmonella* es el agente que se presenta en mayor cantidad y en los tres lotes productivos, seguido de *E. coli* y *Enterobacter*, mientras que *Proteus*, *Pseudomona* y *Serratia* no se encontraron en el lote de reproductores pero sí en maternidad y crianza, por otra parte *Shigella* solo se encontró en animales reproductores.

Como dato adicional (Cuadro 1) se presenta la edad y peso promedio de los ejemplares muestrados por lote productivo, reproductores (n=30), maternidad (n=30) y crecimiento (n=20). Cada lote tenía instalaciones diferentes, las reproductoras en corrales con piso de tierra, las de crecimiento en piso de concreto y las de maternidad en malla de criba, se ofrecía alimento dos veces al día con fruta de temporada y agua para hidratar a los dos últimos lotes.

Cuadro 1. Edad y pesos promedio de *G. carbonaria* por lote muestreado

Lotes	Edad aproximada	Peso promedio (Kg)	Desviación estándar (Kg)
Reproductores	> 5 años	2.712	0.877
Maternidad	1-45 días	0.047	0.011
Crecimiento	46-120 días	0.055	0.011

## DISCUSIÓN

En cuanto a las técnicas de colecta, transporte y cultivo de las muestras es el indicado, en estudios como los de Ruiz, *et al.*, (2010) y Benites, *et al.*, (2013) donde se colectaron muestras directamente de las cloacas de los testudines de esta especie y otras, mencionan que la conservación de las muestras en caldos de cultivo conservados en frío (4°C), previos a su ingreso al laboratorio constituyen parte fundamental en la incubación de las bacterias en los diferentes medios de cultivo utilizados.

De las bacterias identificadas se observó que *E. coli*, *Salmonella* y *Enterobacter* fueron los agentes con mayor frecuencia absoluta y relativa del total de los animales muestreados en los tres diferentes grupos de la población, (Penagos *et al.*, (2018) menciona que para el caso de *Salmonella*, este agente se reporta como uno de los más frecuentemente encontrados en diferentes especies de tortugas semiacuáticas y terrestres, entre estas últimas la *G. carbonaria*, para el caso de *Shigella* solo se pudo identificar en el lote de

animales reproductivamente activos, mientras que en el grupo de crecimiento y maternidad las bacterias encontradas en menor proporción fueron *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* y *Pseudomona*, para esta última bacteria no se encontró en el lote de crecimiento o crianza, *Klebsiella* no se encontró en el lote de maternidad, Ruíz, *et al.*, (2010) menciona estos agentes como presentes en la microflora cloacal de tortugas patas rojas en Sudamérica, Duque y Giraldo (2008) y Meyer, *et al.*, (2015) también encontraron a estos agentes microbianos en otras especies de tortugas en la Amazonía.

Pessoa (2009), menciona que animales de la misma especie de tortugas mantenidos como mascotas en domicilios en Brasil fueron positivos algunos agentes encontrados en el presente estudio, tal es el caso de *Klebsiella*, *E. coli* y *Citrobacter*, Meyer (2015), también documenta que los diferentes agentes y sus cargas presentes en diferentes poblaciones y estratos de población pueden deberse a situaciones como el manejo sanitario, tipo de instalaciones y el estado de salud de los ejemplares, situaciones como la inmunodepresión (Benites, *et al.*, 2013) puede favorecer la proliferación en mayor grado de algunos agentes de carácter oportunista. Pessoa (2009), hace énfasis en la importancia de conocer la microbiota presente en este tipo de animales que mantienen esta relación con los seres humanos que los mantienen en sus domicilios por el riesgo de la infección cruzada que puede darse de las tortugas a las personas.

## CONCLUSIÓN

Todos los ejemplares muestreados resultaron positivos al menos a un tipo de agente microbiano, se pudieron aislar siete diferentes géneros y una especie de bacterias presentes en las cloacas de *G. carbonaria* en cautiverio, es importante conocer la microflora presente en estos animales, principalmente cuando el objetivo de los mismos es la venta como animales de compañía, sobre todo por el riesgo zoonótico que representan a la población humana que cohabita con ellos en sus predios.

## BIBLIOGRAFÍA

- Benites N. R., Pessoa C., Bandini L., Saidenberg A., Moreno A. y Sakata S. (2013). Bacterial and fungal microflora present in the cloacae of domestically kept red-footed tortoises (*Geochelone carbonaria*). *Rev. Veterinaria e Zootecnia*, Universidade Estadual Paulista. Faculta de Medicina Veterinaria e Zootecnia. Vol. 20, No. 1, Mar. 2013, pp. 102.
- CITES (2022). Dictámenes de extracción no perjudicial y gestión del comercio de las tortugas terrestres y galápagos - *Guía para la Autoridad Científica y la Autoridad Administrativa de la CITES*. Disponible en: <https://cites.org/sites/default/files/esp/com/ac/28/S-AC28-15-A2.pdf> (Fecha de consulta: 18 de septiembre de 2022).
- Duque S. y Giraldo M. A. (2008). Búsqueda de Salmonella entérica en tortugas semiacuáticas del Centro. *Trabajo de investigación para optar al título de Médico Veterinario Zootecnista*. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia- Universidad CES, Instituto Colombiano de Medicina Tropical (ICMT-CES) Centro de Atención y Valoración de Fauna Silvestre del Área Metropolitana del Valle de Aburrá (CAV), Medellín Colombia.
- Hernández O. y Boade E. O. (2008). Relación entre el tamaño de hembra y la producción de huevos en el morrocoy sabanero *Geochelone (Chelonoidis) carbonaria* (Spix, 1824) en un zocriadero comercial de Venezuela. *Interciencia*, 33(6), 461-466.
- Mojica C. M., Rincón R. C. V. y Landínez T. Á. Y. (2012). Tráfico de animales silvestres: una conflictiva relación entre los humanos y la fauna. *Conexión Agropecuaria JDC*, 2(1), 69-82. Recuperado a partir de <https://revista.jdc.edu.co/index.php/conexagro/article/view/341>
- Orellana R. L., Espadas M. C. y Nava M. F. 2010. Climas. En: Durán R. y M. Mendez. 2010. *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán*. CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA. 496 pp.
- Penagos G. M., Trujillo G. C., Pérez G. J., Sánchez J. M. M, Cardona C. N. (2018). Presencia de *Salmonella spp.* en tortugas de río en cautiverio y en libertad en Urabá, Colombia. *Rev. CES Med. Zootec.* 2018; Vol 13 (2): 111-120.
- Pessoa C. A. (2009). Avaliação da microbiota bacteriana e fúngica presente na cloaca de jabutis (*Geochelone carbonaria*) criados em domicílio e análise do potencial risco à saúde humana. Tesis. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil. Pp. 99.
- Ruiz N., Calle S. y Gálvez C. (2010). Identificación de Salmonella sp. En tortugas Motelo (*Geochelone denticulata*) de un criadero de la ciudad de Iquitos. *Rev Inv Vet Perú*. 21: 140-143.

Turtle Conservation Fund (2002). *A Global Action Plan for Conservation of Tortoises and Freshwater Turtles. Strategy and Funding*. Prospectus 2002–2007. Conservation International/Chelonian Research Foundation. Washington, DC, EEUU. 30 pp.

