



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**

TESIS

**ENTEROBACTERIAS POTENCIALMENTE PATÓGENAS EN LA
TORTUGA TARICAYA (*Podocnemis unifilis*) DE UN ZOOLOGICO DE
LA CIUDAD DE IQUITOS**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

**EVELYN FRANCISCA ROJAS GUILLEN
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA**

LIMA - PERÚ

2018

DEDICATORIA

- A Dios por llenarme de bendiciones cada día, guiar mis pasos y permitirme alcanzar cada uno de mis objetivos.
- A mis padres Margoth Guillen y Samuel Rojas, por la confianza y todo el esfuerzo para que juntos alcancemos esta meta.
- A mis dos grandes amores por brindarme su amor y alegría: mi esposo y mi pequeña hijita.

AGRADECIMIENTO

- A la Mg. Nancy Carlos, por haberme dado la confianza para la realización de este proyecto, por su dedicada asesoría, exigencia, aportando todos sus conocimientos para la realización de este presente trabajo.
- Al Zoológico Quistococha y en especial a la Blga. Sandy Tassy, por haberme dado la oportunidad y confianza de trabajar en las instalaciones, ya que sin su colaboración esto no hubiera sido posible.
- A todas las personas de las instalaciones del zoológico Quistococha que me brindaron su apoyo y colaboración en la realización de la presente tesis.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue identificar enterobacterias potencialmente patógenas en la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) habitadas en el Zoológico Quistococha, ubicado en la ciudad de Iquitos, departamento de Loreto. El zoológico cuenta con una población de 80 individuos dispuestos en 2 pozas artificiales, para el estudio se analizaron las muestras de 30 individuos (15 de la poza A y 15 de la poza B) correspondiendo 16 machos y 14 hembras entre juveniles y adultos. Se obtuvo un hisopado cloacal de cada individuo con un hisopo estéril, las muestras fueron colocadas en el medio de transporte Cary Blair. Las muestras del hisopado cloacal se mantuvieron en refrigeración a 4°C para su análisis en un laboratorio privado en la Ciudad de Lima. En el laboratorio, las muestras fueron cultivados en los agares MacConkey (MC) y *Salmonella-Shigella* (SS), posterior a ello se realizó pruebas bioquímicas selectivas para el diagnóstico (TSI, LIA, SIM, Citrato y Voges Proskauer). Se aislaron cinco especies de bacterias con potencial patógeno: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella* spp. y *Proteus mirabilis*.

PALABRAS CLAVE: patógeno, enterobacteria, zoonosis, tortuga.

ABSTRACT

The objective of the present study was to identify potentially pathogenic enterobacteria in the yellow-spotted river turtle (*Podocnemis unifilis*) inhabited by this chelonium in the Quistococha Zoo, located in the city of Iquitos, department of Loreto. The zoo has a population of 80 individuals arranged in 2 artificial pools, for the study the samples of 30 individuals (15 of pool A and 15 of pool B) were analyzed, corresponding 16 males and 14 females between juveniles and adults. A cloacal swab was obtained from each individual with a sterile swab, the samples were placed in the Cary Blair transport medium. The samples cloacal swab were kept in refrigeration at 4 ° C for analysis in a private laboratory in the City of Lima. In the laboratory, the samples were cultured in the McConkey (MC) and *Salmonella-Shigella* (SS) agars. Subsequent biochemical tests were selected for diagnosis (TSI, LIA, SIM, Citrato and Voges Proskauer). Five species of bacteria with pathogenic were isolated: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella* spp. and *Proteus mirabilis*.

KEY WORDS: pathogen, enterobacteria, zoonoses, turtle.

ÍNDICE

	Pág.
Dedicatoria	i
Agradecimiento.....	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
I. Introducción.....	1
II. Marco teórico	
2.1. Enterobacterias potencialmente patógenas	3
2.1.1. Generalidades	3
2.1.2. <i>Escherichia</i> spp	3
2.1.3. <i>Salmonella</i> spp	4
2.1.4. <i>Shigella</i> spp	5
2.1.5. <i>Proteus</i> spp	6
2.1.6. <i>Klebsiella</i> spp	6
2.1.7. Antecedentes de investigación	7
2.1.8. Métodos para el aislamiento de enterobacterias	10
2.1.9. Identificación bioquímica	10
2.2. Tortuga taricaya (<i>Podocnemis unifilis</i>).....	11
2.2.1. Taxonomía	11
2.2.2. Nombres comunes	12
2.2.3. Descripción general.....	12
2.2.4. Reconocimiento sexual.....	12
2.2.5. Hábitat y distribución	13
2.2.6. Comportamiento y alimentación	13

2.2.7. Estado de conservación	14
III. Materiales y métodos	
3.1. Espacio y tiempo	15
3.2. Población y muestra	15
3.3. Diseño de la investigación	15
3.4. Procedimiento.....	16
3.5. Diseño estadístico	18
IV. Resultados	19
V. Discusión.....	21
VI. Conclusiones.....	26
VII. Recomendaciones	27
VIII. Referencias bibliográficas	28
Anexos	32

I. INTRODUCCIÓN

Las Enterobacterias se encuentran en el tracto intestinal de vertebrados de sangre caliente y sangre fría (como los reptiles). En las tortugas se presentan como microbiota normal, siendo alguna de ellas potencialmente patógenas involucradas en infecciones gastrointestinales, constituyendo un riesgo tanto para los individuos inmunosuprimidos, así como para aquel que este en contacto con estos reptiles o con sus desechos como las heces.

Por otro lado, la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) es un quelonio semiacuático que habita ríos y quebradas de la Amazonía. Su población ha disminuido considerablemente debido a la caza indiscriminada de sus huevos y consumo de carne, siendo categorizada como especie vulnerable. En cautiverio, la tortuga taricaya puede experimentar situaciones de estrés cuando no se les brinda las condiciones necesarias (medioambientales, alimenticias y sanitarias). A pesar que las enterobacterias forman parte de su microbiota normal, algunas de estas bacterias pueden ser consideradas potencialmente patógenas en tortugas con un sistema inmunológico debilitado. Por lo que su mantenimiento y conservación se considera importante.

Estos individuos son portadores de enterobacterias con potencial patógeno, muchas veces sin mostrar signos clínicos, esto además de constituir un problema en la salud animal llevándolos hasta la muerte es una importante fuente de zoonosis en personas que tengan contacto con estos animales como cuidadores, veterinarios y biólogos del zoológico.

En el Perú se conocen pocos trabajos de aislamientos de enterobacterias en esta especie siendo categorizada como especie vulnerable, con esta información se podrá disponer de material actualizado sobre la microbiota potencialmente patógena de la tortuga taricaya en cautiverio asimismo de poder mejorar las medidas de bioseguridad

pertinentes enfocadas al establecimiento de la salud de estas tortugas, lo que permitirá un mayor desarrollo y conservación de esta especie, además de reducir el riesgo de zoonosis.

La presente investigación tuvo como objetivo identificar enterobacterias potencialmente patógenas en muestras de hisopado cloacal de la tortuga taricaya (*P. unifilis*) de un zoológico ubicado en la ciudad de Iquitos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Enterobacterias potencialmente patógenas

2.1.1. Generalidades

Las Enterobacterias son microorganismos entéricos que con suma frecuencia residen en el aparato digestivo de animales y humanos, aunque muchas especies también se encuentran en el agua y en la tierra (1,2).

Están formadas por microorganismos que son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, inmóviles o con flagelos peritricos, oxidasa negativos con requerimientos de nutrición relativamente simples, fermentando los azúcares a una variedad de productos finales (3,4). Pueden agruparse arbitrariamente en tres categorías: apatógenas, patógenas oportunistas y patógenas importantes (2,5).

2.1.2. *Escherichia* spp.

Los miembros de este género tienen un papel nutricional en las vías intestinales sintetizando vitaminas (en especial vitamina K) (2,3). La mayor parte de infecciones ocurre con la especie *Escherichia coli* ya que es uno de los patógenos hospitalarios más importante porque pone en peligro la vida. También puede ocasionar infecciones de vías urinarias adquiridas en la comunidad y ciertas cepas de *E. coli* causan diarrea, estas cepas especiales se clasifican como enterotoxígena (ETC), enteropatógena (EPEC), enteropenetrante (EIEC) y enterohemorrágica (EHEC) (1,6).

E. coli es un fermentador de lactosa con movilidad y se considera que casi todas las cepas de este microorganismo son, cuando más, patógenos oportunistas (1). Al fermentar la lactosa da lugar a la aparición de colonias de color rosado en el medio MacConkey (2).

En el caso de los reptiles la *E. coli* es la bacteria más frecuente aislada de muestras de heces en los laboratorios clínicos (7,8). Se ha identificado en las enfermedades infecciosas que involucran todos los tejidos y sistemas de órganos del cuerpo (7). Es la causa principal de enfermedades o mortalidad de tortugas, ya que actúa directa o indirectamente, desencadenando patologías graves (9).

2.1.3. *Salmonella* spp.

Son bacilos móviles que de manera característica fermentan glucosa y manosa sin producir gas, pero no fermentan lactosa ni sacarosa. La mayor parte de las salmonellas producen H₂S (10). *Salmonella* spp. desarrolla colonias translúcidas ocasionalmente opacas, algunas con centro precipitado negro a causa de la producción de ácido sulfhídrico (11).

Son las enterobacterias de mayor importancia a nivel de salud pública por producir trastornos del tracto gastrointestinal y septicemia no solo en el ser humano, sino en todas las especies animales (3,8). La implicancia en salud pública afecta a la mayoría de personas que consumen agua y alimento contaminado o que están en mal estado de preparación. Además, existe un riesgo ocupacional de las personas que tienen contacto con esta bacteria (8).

En los reptiles, *Salmonella* spp. es un microorganismo natural de la microbiota intestinal; sin embargo, estos animales son catalogados como portadores asintomáticos de la bacteria (12). Los reptiles afectados usualmente no muestran signos clínicos, pero pueden presentar pobre condición corporal o morir súbitamente. El signo clínico más reportado es costras y dermatitis vesicular en lagartijas y serpientes (13).

Dado que la bacteria se encuentra en el tracto digestivo de los animales, la ruta de infección puede ser por contacto directo con las heces del animal o indirectamente con la piel contaminada con el excremento (14). Así como el consumo de sus huevos para el ser humano (15).

2.1.4. *Shigella* spp.

Es no móvil, no fermenta lactosa y es un patógeno declarado. Culturalmente no exigentes, oxidasa negativos y fermentadores de glucosa con producción de ácido, o ácido y gas (1). Se desarrolla bien en medios especiales para la cual se aísla en agar MacConkey (MC), agar Endo, agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD), agar eosina y azul de Metileno (EMB), agar *Salmonella-Shigella* (SS) y agar Hektoen (11). Las colonias sospechosas de *Shigella* son transparentes, translúcidas u opacas y suelen ser lisas (16).

Está considerado como el principal responsable de la disentería bacteriana, enfermedad que en el ser humano provoca enteritis grave con eliminación de heces diarreicas que contienen mucus, sangre y/o pus. El contagio se realiza por contacto directo o bien por medio de alimentos. Puede producir brotes epidémicos por su enorme transmisibilidad (16).

El aislamiento de *Shigella* asociado a tortugas es raro (15); sin embargo, se puede encontrar en muestras de heces de tortugas, pero en menor proporción (17). En ciertas circunstancias esta bacteria puede ser patógena en quelonios, sobre todo en aquellos animales que están en cautiverio (inmunodeprimidos y desnutridos) (10). También existe riesgo en la salud de las personas que consumen carne de tortuga contaminadas con *Shigella* (18).

2.1.5. *Proteus* spp.

Los miembros del genero *Proteus* presentan fuerte actividad de ureasa, producen ácido sulfhídrico, son móviles y positivos para actividad de desaminasa de fenilalanina y negativos para fermentación de lactosa. *P. mirabilis* es causa frecuente de infecciones de vías urinarias nosocómicas y adquiridas en la comunidad, incluso pielonefritis y cistitis (1). Las bacterias del género *Proteus* se mueven muy activamente por medio de flagelos peritricosos, lo que da resultado “enjambre” en medios sólidos a menos que el enjambre se inhiba por sustancias químicas (10).

Esta bacteria ha sido identificada como causante de enfermedades en reptiles mantenidos en cautiverio, es una bacteria potencialmente patógena, que puede portarse como oportunista, ingresar en los tejidos dañados por trauma o aprovechar las condiciones de estrés causando enfermedades graves (5,19), en la piel, el tracto gastrointestinal y el tracto respiratorio (20).

Proteus mirabilis son considerados saprofitas y parte de la microbiota normal que se encuentra en la piel de los reptiles (19), pero en situaciones adversas como infecciones secundarias pueden generar un problema en el tegumento como dermatitis vesicular necrotizante (21).

2.1.6. *Klebsiella* spp.

El género *Klebsiella* contiene dos especies patógenas: *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* (1). Son microorganismos entéricos sin movilidad que fermentan la lactosa, descarboxilan la lisina, pero no la ornitina, e hidrolizan la urea con lentitud. *K. pneumoniae*, es notable porque forma colonias mucoides de gran tamaño, húmedos debido a la presencia de material capsular (1).

Klebsiella pneumoniae se aísla en la región superior del aparato respiratorio y en el aparato digestivo de alrededor de 5% de la población general. De este modo, el origen de las infecciones suele ser la aspiración de secreciones respiratorias o contaminación de catéteres con microorganismos procedentes del aparato digestivo (1).

Klebsiella pneumoniae en reptiles en cautividad, han sido asociadas posterior a condiciones adversas, como la poca calidad del agua de los estanques, cambios bruscos de temperatura del agua durante el día y la noche o días lluviosos, manipulación frecuente, entre otros (22). Se relacionan con enfermedad cutánea septicémica ulcerativa, dermatitis papilar, dermatitis focal erosiva, dermatitis ulcerosa traumática, dermatitis necrosante, estomatitis ulcerosa, rinitis obstructiva, queratoconjuntivitis, septicemia, bronconeumonía y osteomielitis (4). El hombre se puede contagiar por manipuleo o contacto directo provocando infecciones del tracto respiratorio y septicemia (21).

2.1.7. Antecedentes de investigación

Los reptiles pueden ser portadores de diversos patógenos (4). Estos son animales clínicamente sanos, pero pueden hospedar en el tracto digestivo bacterias potencialmente patogénicas (23). A continuación, se describen los estudios de enterobacterias llevados a cabo en quelonios.

En Brasil se estudiaron las enterobacterias presentes de la tortuga charapa (*Podocnemis expansa*) de vida libre y cautiverio. Analizando los hisopados cloacales de 116 individuos adultos, 51 de ellas fueron de vida libre y 65 en cautiverio. Realizaron un pre enriquecimiento con caldo Selenito y Brain heart Infusion (BHI), luego sembraron en el agar MacConkey, *Salmonella-Shigella* y Mueller-Hinton e incubaron. Los resultados incluyen a 20 especies de vida libre y 10 de cautiverio siendo los aislamientos más frecuentes: *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Salmonella* spp., *E. coli*, *Proteus mirabilis*, entre otros (7).

Otro estudio llevado a cabo en Brasil busco determinar las enterobacterias en la cavidad oral y cloacal de 18 individuos de tortuga charapa (*Podocnemis expansa*) y 30 individuos de tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) capturadas en el Parque Nacional Araguaia. Se tomaron hisopados cloacales y de la cavidad oral, se utilizó el medio de enriquecimiento selectivo de tetrionato Muller Kauffman, luego fueron sembrados en el agar Eosina azul de metileno, agar MacConkey y *Salmonella Shigella* y posterior a ello se realizó la prueba de TSI y el Test API 20E. Hallando 13 especies de bacterias Gram negativas en *P. unifilis*: 9 de la cavidad oral y 6 en la cloaca, en esta última se aislaron: *Citrobacter youngae*, *E. coli*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia ficaria* y *Shigella flexnerii*. En *P. expansa* se identificaron 7 bacterias, 5 de la cavidad oral y 2 en la cloaca, en esta última se aislaron: *E. coli* y *Shigella flexnerii* (15).

En Costa Rica se examinaron a 70 individuos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) de vida libre, tomando hisopados nasal y cloacal, durante tres meses. Las muestras cloacales fueron colocadas en el medio de enriquecimiento caldo Rappaport-Vassiliadis-soya Peptona, fueron cultivados en el agar XLD. Las bacterias aisladas

incluyeron a tres Gram positivas como: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus cromogenes* y *Staphylococcus intermedius* y 21 Gram negativas incluyendo a la familia de las enterobacterias, como *Enterobacter agglomerans*, *E. cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Serratia marcescens* entre otras (24).

En Colombia se realizó un estudio con el fin de determinar la presencia de *Salmonella* en 342 tortugas de orden Testudines de diferentes géneros (18 especies, como *Rhinoclemmys melanosterna*, *Rhinoclemmys diademata*, *Chelonoides denticulata*, *Chelus fimbriatus*, entre otras) y 227 caimanes (*Crocodylus intermedius* y *Caiman crocodylus*) mantenidos en cautiverio. Se tomaron hisopados cloacales, muestras de sedimento y agua de las pozas. Se tomó 250 gr de sedimento (arena) y 250 ml de agua que fueron colocados en una bolsa hermética. Todas las muestras fueron conservadas en un pre enriquecimiento no selectivo con caldo Lactosado Estéril, luego paso a un caldo tetracionato, posterior a ello a los agares MacConkey y CHROMagar. A partir de los hisopados cloacales de los Testudines se aisló: *Salmonella* spp., *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp. y *Staphylococcus saprophyticus* (16).

En Perú, se han llevado a cabo diversos estudios sobre la microbiota de reptiles como los realizados en el caimán blanco (*Caiman crocodylus*) de vida libre en muestras de hisopado cloacal en el río Madre de Dios (25), en la boa mantona (*B. Constrictor*), boa arcoiris (*Epicrates cenchria*) y anaconda (*Eunectes murinus*) mantenidas en cautiverio en Lima a partir de muestras de la cavidad oral (26), y en muestras cloacales en el lagarto caimán (*Dracaena guianensis*) de crianza en cautiverio en un zocriadero de Lima (27).

Respecto a los quelonios solo se han encontrado dos referencias, uno de ellos se realizó en la tortuga motelo de patas amarillas (*Chelonoides denticulata*) en cautiverio en la Ciudad de Iquitos. Se tomaron 30 muestras de heces por medio de hisopado cloacal estéril que se colocaron en un medio de enriquecimiento (Agar Tripticasa Soya), caldo Rappaport, caldo tetracionato y caldo selenito. Posterior a ello se sembraron en placas de agar SS, agar verde brillante (VB) y agar XLD. Hallando: *Salmonella* spp., así como como *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* y *Citrobacter* spp. (8).

En la Ciudad de Pucallpa, se analizaron los hisopados cloacales de diversos reptiles ofertados en un mercado y un zoológico local, entre ellos un individuo de tortuga cupiso (*Podocnemis sextuberculata*), 22 individuos de motelo de patas amarillas (*C. denticulata*) y 12 individuos de tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*). Los hisopados cloacales se colocaron en un medio de transporte Cary blair, para posteriormente cultivarlos en agares MC, Hektoen, SS, Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa y en agar Campy CVA. Luego se realizó el enriquecimiento en caldo selenito y agua peptonada. Aislando únicamente a *Aeromonas hydrophila* en *C. denticulata* y *P. unifilis*, en la tortuga cupiso no se aislaron bacterias (28).

2.1.8. Métodos para el aislamiento de Enterobacterias

Las Enterobacterias pueden utilizar numerosos sustratos como fuente energética, por ello son capaces de crecer en medios no selectivos como agar sangre y en medios selectivos como agar MacConkey (MC), agar xilosa-lisina-desoxicolato (XDL), agar Hektoen (HE) y agar *Salmonella Shigella* (SS) (6).

La selección del medio de cultivo, condiciones atmosféricas y otras características esenciales para el aislamiento está determinada por la bacteria patógena sospechosa (10). El aislamiento y crecimiento inicial de microorganismos de un espécimen clínico se conoce como aislamiento primario realizado en medios sólidos (11).

El aislamiento de rutina de muchos patógenos implica la inoculación de placas en agar MacConkey, ya que es el inicio para la identificación preliminar de muchos patógenos bacterianos (2). Es el medio que permite seleccionar ciertos microorganismos frenando el desarrollo de otros (11). Contiene bilis lo que lo hace especialmente útil para el aislamiento de enterobacterias y algunas otras bacterias Gram negativas. Permite la diferenciación de fermentadores de lactosa y no fermentadores de lactosa (2).

El agar SS (*Salmonella-Shigella*) es muy útil para coprocultivos, el medio inhibe gran parte de la microbiota contaminante presente en las heces. Posee lactosa, citrato férrico y citrato de sodio; como indicador posee rojo neutro y como inhibidores de los coliformes, verde brillante y sales biliares (11).

2.1.9. Identificación bioquímica

La identificación definitiva de un patógeno potencial implica el subcultivo de una colonia aislada para obtener un crecimiento puro de las bacterias basado en las pruebas bioquímicas (1). Las pruebas bioquímicas relacionan las actividades catabólicas de las bacterias y un indicador es el sistema habitualmente empleado para demostrar la utilización de un sustrato en particular. A causa de que el rango de azúcares utilizados por una especie bacteriana en particular es generalmente limitado, el catabolismo de diferentes azúcares es frecuentemente utilizado para la identificación (2) (Anexo 1).

Algunas de las pruebas empleadas con mayor frecuencia son:

- El rojo de metilo y Voges-Proskauer que determinan el tipo de fermentación de la glucosa y permiten la diferenciación de las enterobacterias del grupo *coli* y *aerogenes*. (6).
- Agar hierro de Kligler (KIA) y el agar triple azúcar hierro (TSI) que son medios de cultivo que determinan la fermentación de los hidratos de carbono (lactosa y glucosa), la producción de ácido sulfhídrico (H₂S) y la producción de gas (6).
- Agar lisina hierro (LIA), que utiliza la lisina como sustrato para detectar la presencia de las enzimas descarboxilasa y desaminasa (6).
- Utilización del citrato, el principio de esta prueba es determinar la capacidad de los organismos para usar el citrato de sodio como fuente de carbono para el metabolismo y el crecimiento (6).

2.2. Tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*)

2.2.1. Taxonomía

Reino: Animalia

Clase: Reptilia

Orden: Testudine

Familia: Podocnemididae

Género: Podocnemis

Especie: *P. unifilis* (29).

2.2.2. Nombres comunes

Comúnmente conocida como Tortuga de Río de Pintas Amarillas, Teracay, Taricaya, Charapa, Tracaxá, Tarricayá, Peta de agua, Terecayá, Anayurí, Charapa pequeña, Tracaja (hembra) y Zé prego (macho) en Brasil, y en inglés Yellow-spotted river turtle (30).

2.2.3. Descripción general

Es una tortuga dulceacuícola que puede alcanzar un tamaño medio de 40 cm y un peso aproximado de 9 a 12 kg. Presenta un caparazón convexo y ovalado que alcanza su máxima anchura a nivel medio (31). El color del caparazón varía entre café oscuro o negro y el plastrón es grisáceo (2). Las patas son completamente palmeadas (3).

Las crías y juveniles se caracterizan por presentar vistosas manchas amarillo-naranja sobre la cabeza (30).

2.2.4. Reconocimiento sexual

La característica más constante que distingue los sexos es que los machos tienen la cola más larga y gruesa que las hembras (30,32,33). Por lo general cuando la cola es halada fuera de la concha de la tortuga y esta se encuentra ubicada en el plastrón boca arriba, se puede observar fácilmente que, en los machos, la cloaca queda situada posterior al caparazón, mientras que en las hembras la cloaca queda situada anterior al margen posterior del caparazón (32).

Las hembras son más grandes que los machos (50 cm versus 33,5 de longitud del espaldar). Los machos tienen las uñas más desarrolladas sobre las aletas anteriores para aferrarse firmemente a las hembras durante la copula; las tortugas poseen fertilización interna, los machos poseen un órgano copulador o pene alojado dentro de la cloaca (32).

2.2.5. Hábitat y distribución

Viven en los caños secundarios de los grandes ríos (32). Se encuentra distribuida en el sistema hidrográfico de la amazonia y Orinoquia en Colombia, Venezuela, Brasil, Perú, Ecuador, Bolivia y las Guayanas. En el Perú se encuentran en casi toda la región de la selva baja de los departamentos de Loreto, Ucayali, Amazonas, Huánuco y Madre de Dios (30,32).

2.2.6. Comportamiento y alimentación

La tortuga taricaya es una especie que no tiene preferencia muy marcada por las aguas negras o blancas (30,32). Esta especie no forma congregaciones de anidación, pero se reúne en las márgenes de los barrancos de arena para tomar sol y encima de troncos que sobresalen del agua, lo que ayuda a madurar sus huevos. La temporada de reproducción coincide con los meses más secos en la amazonia. Durante la estación lluviosa migra hacia los lagos y los bosques inundados donde los ejemplares inmaduros permanecen por periodos de tiempos más prolongados. Solo habitan en los grandes ríos durante el verano cuando es la estación de anidamiento (30).

Esta especie se ve expuesta a una intensa sobreexplotación de los adultos y huevos, en especial durante el invierno cuando la pesca es escasa. La habilidad para soportar la excesiva explotación se atribuye a su capacidad para anidar en ambientes muy variados y en pequeños grupos que aumentan las posibilidades de supervivencia para los individuos y nidos de las playas más inaccesibles (32).

En cuanto a su alimentación estas son mayoritariamente herbívoras y consumen gran variedad de plantas acuáticas, hierbas, frutas y todo tipo de material autóctono, si bien

ocasionalmente ingiere pequeños animales como moluscos, crustáceos, huevos de peces e incluso carroña (34).

2.2.7. Estado de conservación

Esta especie está categorizada en situación vulnerable por la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) (1) y según el DS 004-2014-MINAGRI que categoriza el estado de conservación de la fauna peruana (35). Debido a ser susceptible al tráfico de fauna silvestre, la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestre (CITES) ha colocado esta especie en su apéndice II para controlar su comercialización (36).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Espacio y tiempo

El presente trabajo de investigación se realizó en el zoológico Quistococha ubicado en el distrito de San Juan Bautista, ciudad de Iquitos, departamento de Loreto (03°49'41.59" S 73°10'27.90" O). Las muestras fueron tomadas en el mes de febrero del 2017 y analizadas durante tres días en el Laboratorio de microbiología del Instituto de Educación Superior Tecnológico Privado De Técnicas Agropecuarias (INTAP) ubicada en la ciudad de Lima.

3.2. Población y muestra

La población de esta investigación estuvo conformada por 80 tortugas dispuestas en dos pozas artificiales (Poza A y Poza B). La muestra utilizada fue de 30 individuos (15 de la poza A y 15 de la poza B), correspondiendo 16 machos y 14 hembras entre ellos 25 juveniles y 5 adultos. El sexo y la edad de los individuos fueron determinados según Rueda y colaboradores (30).

3.3. Diseño de la investigación

Este estudio es de tipo descriptivo observacional, se inició con la aceptación del proyecto para la captura y muestreo de animales. Se procedió con la sujeción, para realizar un breve examen clínico y biometría de los individuos, posterior a ello se realizó el hisopado cloacal, el cual se colocó en un medio de transporte. Las muestras fueron enviadas a Lima vía aérea, para su análisis en un laboratorio privado en el que se llevó a cabo el cultivo e identificación. Posteriormente se analizaron los resultados y se obtuvieron las conclusiones pertinentes.

3.4. Procedimiento

a) Presentación y autorización del proyecto

Se inició con la presentación del Proyecto de Tesis a la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Alas Peruanas, para su respectiva aprobación (Resolución N° 029-2017-FCA-UAP). Además, se contó con el permiso para la captura y colecta de muestras de animales silvestres otorgada por Servicio Forestal y flora Fauna Silvestre (SERFOR) para la autorización necesaria (Resolución de Dirección General N° 051-2017-SERFOR-DGGDPFFS) (Anexo 2).

b) Coordinación

Se coordinó con el zoológico Quistococha para realizar la toma de muestra según el cronograma de control sanitario de los quelonios.

c) Captura y Sujeción de los animales

Se ingresó a las pozas (poza A y poza B) para la captura y sujeción, previa protección personal que consistió en chaqueta, guantes y mascarilla, a fin de evitar riesgo de contaminación durante el muestreo (37).

La poza A es de cemento pulido parcialmente enmallado en la parte superior hasta una altura de 1,6 m, con forma rectangular, 9,0 m de largo x 7,0 m de ancho y 50 cm de profundidad del agua, además contaba con un área terrestre cubierta por pasto (30% del total del área aproximadamente) (Anexo 3). Mientras que la poza B es un estanque circular recubierta con losetas de 5 m de diámetro con de 60 cm de altura y con 10 cm de profundidad de agua, cuenta con puerta y mallas en mal estado, en ella solo encontramos individuos juveniles (Anexo 4).

Las tortugas fueron capturadas de su ambiente en cautiverio. La sujeción de cada tortuga se llevó a cabo bajo las indicaciones del zoológico. En general, se debe acercar por debajo y desde detrás, colocando una mano a cada lado del caparazón sin ejercer una presión excesiva y así evitar el estrés (5).

d) Examen clínico y morfometría

Una vez sujetado correctamente se realizó una breve exploración física que consistió en observar a cada individuo, para luego tomar las medidas biométricas (largo de

caparazón, ancho del caparazón y peso). Además, se realizó el sexado de los individuos, según sus características externas como el largo de la cola, entre otros (33).

e) Hisopado cloacal

Con el animal sujeto se introdujo a través de la cloaca un hisopo estéril, haciendo movimientos de rotación contra las paredes cloacales para garantizar la obtención de suficiente muestra. Cada muestra fue debidamente rotulada con un código según un orden correlativo (Anexo 5).

f) Conservación, transporte y envío de las muestras

Los hisopados cloacales se colocaron en un medio de transporte Cary Blair®. Posterior a ello las muestras fueron conservadas a 4°C, utilizando gel refrigerante dentro de una caja de polietileno expandido especial para el transporte de material biológico. Las muestras fueron enviadas vía aérea a la Ciudad de Lima para su análisis.

g) Aislamiento bacteriano

Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de microbiología del instituto "INTAP":

- Se procedió a rotular cada placa con el código de la muestra para posteriormente realizar la inoculación de placas en los cultivos de agar MacConkey y agar *Salmonella-Shigella* (SS) utilizando la técnica de siembra en estría que facilitó el aislamiento de bacterias predominantes en cada placa.
- Luego de ello se llevó al horno a 37° para proceder con la incubación durante 24 horas, al paso de un día se observó el crecimiento bacteriano.
- Partiendo de una colonia aislada, se sembró un tubo inclinado con una aza de siembra por puntura y luego se extendió en la superficie siguiendo el eje longitudinal del tubo en medios diferenciales: TSI (Agar Triple Azúcar Hierro), LIA (Agar Lisina Hierro), Citrato de Simmons, SIM (Agar Indol Sulfuro Hidrógeno) y de Voges Proskauer.
- Pasado 24 horas de incubación se realizó la lectura de reacciones bioquímicas y en caso del medio de cultivo de SIM se agregó 4 gotas de reactivo de Kovacs y en el

caso de Voges Proskauer se adicionaron gotas de α -naftol e hidróxido de potasio (1,2) (Anexo 6-8).

3.5. Diseño estadístico

El estudio describe de manera cualitativa la presencia de enterobacterias potencialmente patógenas encontradas en la tortuga taricaya del zoológico Quistococha.

IV. RESULTADOS

Todos los individuos fueron positivos a enterobacterias potencialmente patógenas, identificándose cinco especies bacterianas en muestras de hisopados cloacales, la descripción de los resultados se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Enterobacterias potencialmente patógenas identificadas en la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) del zoológico Quistococha, Iquitos-Perú.

Bacteria
<i>Escherichia coli</i>
<i>Salmonella</i> spp.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Shigella</i> spp.

A continuación, se describe la clasificación de enterobacterias potencialmente patógenas presentes según la procedencia de pozas de la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) (Tabla 2).

Tabla 2. Enterobacterias potencialmente patógenas aisladas de acuerdo a la procedencia de pozas (poza A y poza B) de la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) del zoológico Quistococha, Iquitos-Perú.

Poza A		Poza B	
Macho	Hembra	Macho	Hembra
<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.
<i>Salmonella</i> spp.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Shigella</i> spp.		<i>Shigella</i> spp.
<i>Shigella</i> spp.			

Además, se hallaron los valores porcentuales de las cinco especies de enterobacterias identificadas (Tabla 3).

Tabla 3. Número y porcentaje de enterobacterias identificadas en la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) del zoológico Quistococha, Iquitos-Perú (n=30).

Bacteria	Individuos positivos	
	N	(%)
<i>Escherichia coli</i>	3	10,00
<i>Salmonella</i> spp.	7	23,33
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	30,00
<i>Proteus mirabilis</i>	6	20,00
<i>Shigella</i> spp.	5	16,66

V. DISCUSIÓN

Este estudio contiene información actualizada acerca de la presencia de enterobacterias con potencial patógeno en muestras de hisopados cloacales en la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) en cautiverio realizado en el Perú. Los resultados observados incluyen patógenos importantes en los hisopados cloacales, esto constituye una amenaza tanto para los ejemplares que se encuentren con el sistema inmunológico debilitado, así como para los que estén en contacto con estos individuos (8).

En el presente estudio se identificaron un total de cinco especies bacterianas: *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Proteus mirabilis*, *Shigella* spp. y *Escherichia coli*. Otro estudio realizado en *P. unifilis* de vida libre en Brasil aislaron 6 especies bacterianas (15) y una sola en Pucallpa (Perú) (28), todas a partir de hisopados cloacales. En la tortuga charapa (*P. expansa*) se aislaron 20 especies bacterianas en individuos de vida libre y 10 en las de cautiverio (7) y en la tortuga verde (*C. mydas*) de vida libre, se aislaron 21 especies bacterianas (24). En Colombia donde se estudiaron diversas especies de Testudines en cautiverio se identificaron tres especies bacterianas (16). Se observa mayor frecuencia de diversidad de microorganismos en animales de vida libre en comparación con los que están cautiverio. Tal situación se da debido a la variedad de especies en una comunidad ecológica que puede afectar la tasa de prevalencia de las enfermedades infecciosas (7).

Se identificó a *Klebsiella pneumoniae* de manera similar a otros estudios en distintas especies de quelonios como la tortuga charapa (*P. expansa*) en cautiverio (7), y en la tortuga verde (*C. mydas*) de vida libre (24). Aunque se considera parte de la microbiota cloacal, es asociado a condiciones adversas, como la poca calidad del agua de los estanques, cambios bruscos de temperatura del agua durante el día y la noche o días lluviosos, manipulación frecuente, entre otros (22). Además, esta bacteria de presenta

de manera natural en ambientes acuáticos, pudiendo multiplicarse y alcanzar concentraciones elevadas en aguas ricas de nutrientes (38), como heces o alimento contaminado. Por otro lado, el zoológico realizaba limpieza continua de las pozas y no se observó turbidez o mala calidad de agua y la temperatura del agua estaba sujeta a cambios ambientales propios de la zona de distribución natural de la especie. Se considera importante este hallazgo debido al riesgo de contagio para los cuidadores y veterinarios que estén en contacto con estos animales, generando enfermedades respiratorias.

Otra bacteria aislada en el estudio fue *Salmonella* spp. de las muestras analizadas, previamente no se había reportado esta bacteria en *P. unifilis*. En otras especies de quelonios se identificó esta especie bacteriana como en la tortuga motelo de patas amarillas (*C. denticulata*) (8), en el de Colombia en diferentes especies (16), y en la tortuga charapa (*P. expansa*) (7). La presencia de esta especie bacteriana se ha observado en individuos de diferentes poblaciones siendo el aislamiento afectado debido a su excreción intermitente (39), además depende de la especie animal estudiada y de las características externas que lo rodea (40). Este aislamiento sugiere un riesgo para el ser humano, ya que esta bacteria es considerada como un patógeno importante (2), de carácter zoonótico y puede generar cuadros patológicos de gran importancia en salud pública (41), ocasionando trastornos del tracto gastrointestinal y septicemia (3,8).

Cabe resaltar que ninguno de los animales presentaba sintomatología asociada con salmonelosis (como pobre condición corporal, costras, dermatitis vesicular), lo cual se explica ya que varias investigaciones establecen que los reptiles son portadores asintomáticos de la bacteria (12,16).

Proteus mirabilis es otra enterobacteria que previamente no se había reportado en *P. unifilis*. Se encontró en otras especies de quelonios como en la tortuga charapa (*P. expansa*) en Brasil (7) y en Costa Rica en la tortuga verde (*C. mydas*) (24), en Perú en la tortuga motelo (*C. denticulata*) (8). Aunque son parte de la microbiota normal de los reptiles, pueden portarse como oportunista, ingresar a los tejidos dañados por traumas

o aprovechar condiciones de estrés, causando septicemias, enterocolitis y diarreas (43), por lo que sería importante brindarle un adecuado manejo en el zoológico. Al igual que *K. pneumoniae* y *Salmonella* spp. es una bacteria potencialmente patógena (43).

Se aisló *Shigella* spp., aunque esta bacteria asociada en tortuga es rara se identificó *Shigella flexnerii* en otro estudio en *P. unifilis* y en *P. expansa* de vida libre (15). La mayoría de los individuos se infecta con esta bacteria cuando ingiere alimentos o agua contaminada con material fecal humano, la diseminación siempre proviene de una fuente humana (1). En ciertas circunstancias *Shigella* spp. puede ser patógena en quelonios, sobre todo en aquellos animales que están en cautiverio (inmunodeprimidos y desnutridos) (10). Además, está considerado como el principal responsable de la disentería bacteriana, enfermedad que en el ser humano provoca enteritis grave con eliminación de heces diarreicas que contienen mucus, sangre y/o pus (16).

Escherichia coli se pudo identificar en este estudio, de manera similar en otros reportes como en un estudio previo en *P. unifilis* de vida libre (15), en la tortuga charapa (*P. expansa*) en cautiverio (7) y en la tortuga motelo de patas amarillas (*C. denticulata*) (8). Este microorganismo es parte de la microbiota normal y en forma incidental producen enfermedad (10). Es decir que cuando las defensas normales del hospedador son inadecuadas, *E. coli* puede llegar al torrente sanguíneo y generar septicemia (10). En el caso de los reptiles la *E. coli* es la bacteria más frecuente aislada de muestras de heces en los laboratorios clínicos (7;8). Se ha identificado en las enfermedades infecciosas que involucran todos los tejidos y sistemas de órganos del cuerpo (7). Es la causa principal de enfermedades o mortalidad en la tortuga lora (*L. kempii*), ya que actúa directa o indirectamente, desencadenando patologías graves (9), por lo cual, y semejante a *P. mirabilis*, es importante brindarles a las tortugas un adecuado manejo en el zoológico para evitar la presentación de enfermedades.

Según el sexo de los individuos estudiados, no se encontró una marcada diferencia entre los aislamientos bacterianos, en el caso de los machos se aislaron cinco géneros bacterianos, y en las hembras solo cuatro. Similar a el estudio de Caimán blanco (*Caiman crocodilus*) donde se encontró cinco especies bacterianas en machos y en

hembras tres (25). El estudio del sexo en reptiles no parece ser un factor de riesgo importante, las condiciones patológicas dependen de los detalles circunstanciales y lo más importante es el estado de estrés y patologías concomitantes (44) Sin embargo, *E. coli* solo se aisló en individuos machos de la poza A, por sobre las hembras de ambas pozas. Aunque *E. coli* es parte de la microbiota se puede sugerir que en este estudio es la bacteria más frecuente aislada en los machos debido a un estado inmunológico debilitado (16), pudiendo desencadenar patologías graves inclusive la muerte.

Al comparar la microbiota de las tortugas según la poza donde estaban albergadas, en la poza A se aislaron cinco especies bacterianas (*E. coli*, *Salmonella* spp., *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* y *Shigella* spp.) y en la poza B solamente cuatro (*Salmonella* spp., *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* y *Shigella* spp.). La ausencia de *E. coli* en las tortugas de la poza B difiere al hallazgo a partir de muestras fecales, donde es la bacteria predominante (17). Sin embargo, cuando hay poca o ninguna muestra fecal en la muestra de hisopado cloacal y poca carga bacteriana en la cloaca, el no aislamiento puede no representar la ausencia en la microbiota (40).

La información obtenida en este estudio es fundamental para determinar el potencial patógeno de la microbiota, así como prevenir procesos secundarios a estrés e inmunosupresión que contribuyan a las enterobacterias a generar cuadros de infección. Todo ello dirigido a optimizar programas de control sanitario en el zoológico Quistococha ubicada en la ciudad de Iquitos.

VI. CONCLUSIONES

- En la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) se aislaron enterobacterias potencialmente patógenas de un zoológico de la ciudad de Iquitos.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar evaluaciones continuas y monitoreo de las tortugas y su ambiente para así disminuir las posibles infecciones por enterobacterias.
- Con el fin de disminuir el riesgo zoonótico, llevar a cabo medidas de bioseguridad para el personal, utilizando medidas de protección personal cuando entren en contacto con los ejemplares y las fuentes de agua que habitan.
- Considerar un estudio cuantitativo en las futuras investigaciones de enterobacterias para relacionar las posibles variables.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Stuart T. Microbiología 2da ed. México: McGraw-Hill- Interamericana; 2000.
2. Quin P. Microbiología y enfermedades infecciosas. 1era ed. Zaragoza: editorial Acribia; 2002.
3. Brooks G, Carrol K, Butel J, Morse S, Miertzner T. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica. 2a ed. Barcelona: Mc Graw Hill; 2011.
4. Willey J, Sherwood L, Woolverton C. Microbiología de Prescott, Harley y Klein. 7a ed. Madrid: Mc Graw Hill; 2009.
5. Biberstein E, Chung Z. Tratado de Microbiología Veterinaria. 1a. ed. Zaragoza: Acribia S.A; 1990.
6. Vadillo S. Manual de Microbiología veterinaria. 1a. ed. Barcelona: Mc Graw Hill. Interamericana; 2002.
7. Meyer J, Marinho M, Vidovix C, Bosco J, Tavares H. Enterobacterias en tortugas silvestres y cautivas del Amazonas. Rev Bio Trop. 2015; 63 (4): 1083-1085.
8. Ruiz N, Calle S, Gálvez N. Identificación de *Salmonella sp.* En tortugas Motelo (*Geochelone denticulata*) de un criadero de la ciudad de Iquitos. [tesis]. Iquitos: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
9. Serrano A, Castan L, Silva C, Muñoz A, Ávila C. Identificación de la flora bacteriana en la Tortuga lora (*Lepidochelys kempii*) en el ejido Barra Galindo, Tuxpan, Veracruz, México. Hidrobiológica. 2012; 22 (2): 52-55.
10. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología médica. 25a. ed. Distrito federal: Mc Graw Hill. Lange; 2011.
11. Stanchi N. et al. Microbiología veterinaria. 1a. ed. Buenos aires: Inter-medica; 2007.

12. Mitchell M, Shane S. Preliminary findings of *Salmonella* spp. In captive green iguanas (*Iguana iguana*) and their environment. Preventive veterinary medicine. 2000; 45 (1): 297-304.
13. Mader D. Antimicrobial therapy in exotics. Rev Bayer.1998; 20(3).
14. Mahajan R, Khan S, Chandel D, Kumar N, Hans C, Chaudhry R. Fatal case of *Salmonella enterica* subsp. *Arizonae* gastroenteritis in an infant with microcephaly. J Clin Microbiol. 2003; 41(12): 5830-5832.
15. Bevides P. Rodríguez D. Pinheiro F. Wessel K. Sanzio R. Enterobacteriaceae in mouth and cloaca of *Podocnemis expansa* and *P. unifilis* (testudines: chelonia) populations of national park of Araguaia plains, Brazil. Braz J Microbiol. 2011; 42(2):526-530.
16. Pachón A. Aislamiento, identificación y serotipificación de Enterobacterias del género *Salmonella* en una población de testudinos mantenidos en cautiverio en la estación de biología tropical Roberto Franco de la facultad de ciencias. [tesis]. Bogotá: Pontificia Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias básicas; 2009.
17. Abalem I, Solari C. *Salmonella* in Brazilian and imported pet reptiles. Braz. J. Microbiol. 2001; 32(4): 293-297.
18. Dickinson V, Duck T, Schawalbe C, Jarchow J, Trueblood M. Nasal and cloacal bacteria in free-ranging desert tortoises from the western United States. J Wildl Dis. 2001; 37(2): 252-257.
19. Glazebrook J, Campbell R. A survey of the diseases of marine turtles in northern Australia. II. Oceanarium-reared and wild turtles. Diseases of aquatic organisms. 1990; 9:(1) 97-104.
20. Schumacher J. Select infectious diseases of wild reptiles and amphibians. Journal of exotic pet medicine. 2006; 15(1): 18-24.

21. Otto E, Hernández O. Enfermedades en tortugas arrau o del Orinoco, *Podocnemis expansa*, mantenidos en zocriaderos venezolanos. Revis científica FCV-LUZ. 2004; 14(5): 395-404.
22. Carriquiriborde M. Enfermedades zoonóticas asociadas a reptiles. Veterinaria Argentina. 2010; 27 (267): 1-6.
23. Lance Jepson MA. Medicina de animales exóticos. Barcelona: Editorial Elsevier; 2011.
24. Santoro M, Hernández G, Caballero M, García F. Aerobic bacterial flora of nesting Green turtles (*Chelonia mydas*) from tortuguero National park, Costa Rica. 2006. *Journal of zoo and wildlife medicine*, 2006; 37(4):549-552.
25. Carlos N, Núñez Y, Gonzales H, Capuñay C. Enterobacterias y su resistencia antimicrobiana en el caimán blanco de vida libre en el rio Madre de Dios, Tambota-Peru. *Rev Latinoamericana de Recursos Naturales*, 2016; 12(2): 53-59.
26. Morales S, Silva W, Rojas G. Flora bacteriana normal de la cavidad oral de boas mantenidas en cautiverio en Lima-Perú. *Rev Científica*. 2012; 9(3): 220-224.
27. Ojeda J. Determinación de la resistencia de enterobacterias aisladas en cloaca de lagartos caimán (*Dracaena guianensis*) mantenidas en cautiverio en un zocriadero de Lima. Lima, Perú: Universidad Científica del Sur; 2017.
28. Cavero N. Bacterias entéricas de potencial zoonótico en reptiles comercializados en la ciudad de Pucallpa. [tesis]. Lima, Perú: Universidad Alas Peruanas; 2013.
29. Lista roja de la IUCN: *Podocnemis unifilis* [homeopage en internet]. Cambridge: Tortoise & Freshwater Turtle Specialist Group.1996 [actualizada 1996; consultada 23 de septiembre 2016] disponible en : <http://www.iucnredlist.org/details/17825/0>
30. Rueda j, Carr J, Mittermeier R. Rodríguez-Mahecha J. Mast R. Vogt R. et al. Las tortugas y los cocodrilianos de los países andinos. Conservación Internacional Editorial Panamericana. Bogotá; 2007.

31. Bonnie L. Chelonias (Turtles, Tortoises). En: Kersey R./ Murray E. Zoo and Wild Animal Medicine. 5a ed. Philadelphia: editorial Elsevier Science; 2003. 190-198.
32. Figueroa F. Saber local, uso y manejo de las tortugas charapa *Podocnemis expansa* y taricaya *Podocnemis unifilis* en el resguardo curare-los ingleses. La pedrera: Colombia [tesis]. Leticia: universidad nacional de Colombia; 2010.
33. Meredith A, Redrobe S. Manual de animales exóticos. 4a ed. Barcelona: editorial Ediciones S; 2012.
34. Hoerner P, Baptistotte C. Chelonia (Tartaruga, Cágado, Jabuti). En: Cubas Z. Tratado de animais selvagens. Sao Paulo: Editorial Roca; 2006.86-96.
35. Decreto supremo que aprueba la actualización de la lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre legalmente protegidas. Decreto supremo N° 004-2014-MINAGRI. Diario oficial *El Peruano*-Normas legales. (08 abril de 2014).
36. Cites [homepage]. Apéndices I,II y III. [acceso 23 septiembre 2016]; [1 pagina]. Disponible en: <https://cites.org/esp/app/appendices.php>.
37. Bunn D. guía de seguridad: uso del equipo de protección personal y bioseguridad. New York: UCDavis – PREDIC; 2011.
38. Fowler M. Miller R. Zoo and wild animal medicine. Current therapy. 4a ed. Philadelphia: editorial elsevier science; 1999.
39. Hidalgo J, Díaz C, De frutos, Jiménez C, Pérez N. *Salmonella* in free living terrestrial and aquatic turtles. Veterinary microbiology. 2007; 119(1) 311-315.
40. Monzon C, Ojeda M, Eheita A, Usera M. Occurrence of *Salmonella* in cold-blooded animals in Gran Canaria, Canari Islands, Spain. Antonie van Leeuwenhoek. 1995; 68(1): 191-194.
41. Saelinger C, Lewbart G. Prevalence of *Salmonella spp.* in cloacal, fecal, and gastrointestinal mucosal samples from wild north American turtles. J Am Vet Med Assoc. 2006; 229: 266-276.

42. Martínez A, Silveira L, Mateo J, Urioste J, Rodríguez M. microbiología cloacal en lagartos gigantes amenazados de las islas canarias (genero gallota) en cautividad. Revista española de herpetología. 17: 29-37.
43. Mader D. Reptile Medicine and surgery. W.B. Saunders Company U.S.A.; 1996.
44. Jacobson E, Behler J, Jarchow J. Health assessment of chelonians and release into the wild. J Wildl.1998; 232-242.

ANEXOS

ANEXO 1

Cuadro 1. Pruebas diagnósticas importantes para bacterias

Prueba	Principio	Procedimiento	Empleo más frecuente
Fermentación de Carbohidratos	Ácido y/o gas durante el crecimiento fermentativo o azúcares o alcoholes azucarados	Medio de caldo con carbohidratos y fenol como indicador de pH, tubo invertido por gas	Diferenciación de bacterias entéricas o separaciones de especies con algunos azúcares individuales.
Utilización de Citrato	Utilización de citrato como única fuente de carbono, lo que origina alcalinización del medio	Medio de citrato como bromotimol azul como indicador de pH; buscar color azul intenso (pH alcalino)	<i>Klebsiella-Enterobacter</i> (+) de <i>Escherichia</i> (-), <i>Edwardsiella</i> (-) de <i>Salmonella</i> (+)
Producción de Sulfuro de Hidrógeno	El H ₂ S producido por descomposición de aminoácidos sulfuro o reducción de tiosulfato	El H ₂ S detectado en medio rico en hierro a partir de la formación de sulfuro ferroso negro	Para ayudar identificar <i>Salmonella</i> , <i>arizona</i> , <i>Edwardsiella</i> y <i>Proteus</i> .
Prueba de Indol	El triptófano de las proteínas convertido en indol	Detectar el indol en el medio de cultivo con dimetilaminobenzaldehido (color rojo)	Para distinguir <i>Escherichia</i> (+) de <i>Klebsiella-Enterobacter</i> (-); <i>Edwardsiella</i> (+) de <i>Salmonella</i> (-)
Prueba de Metil Rojo	Fermentadores ácido-mixtos que producen suficiente ácido para descender el pH por debajo de 4.3	Medio caldo-glucosa. Añadir indicador rojo metilo para una muestra después de incubación.	Para diferenciar <i>Escherichia</i> (+) cultivo rojo de <i>Enterobacter</i> y <i>Klebsiella</i> (por lo general; cultivo amarillo)
Prueba Fenilalanina	La desaminación produce ácido fenilpiruvico, que se detecta en una prueba colorimétrica	Medio enriquecido con fenilalanina. Después del crecimiento, añadir reactivo cloruro férrico; buscar color verde.	Para caracterizar el género <i>Proteus</i> y el grupo providencia.
Prueba Ureasa	Urea (H ₂ N-CO-NH ₂) se desdobra en 2NH ₃ + CO ₂	Medio con úrea al 2% e indicador rojo fenol. El amoniaco produce un aumento del pH, color rosa-rojo fenol.	Para distinguir <i>Klebsiella</i> (+) de <i>Escherichia</i> (-). Para distinguir <i>Proteus</i> (+) de providencia (-)
Prueba de Voges-Proskauer	Acetona producida por la fermentación del azúcar	Prueba bioquímica para acetona utilizando α-naftol	Para separar <i>Klebsiella</i> y <i>Enterobacter</i> (+) de <i>Escherichia</i> (-)

Fuente: Brock. Microbiología, 1993.

ANEXO 2

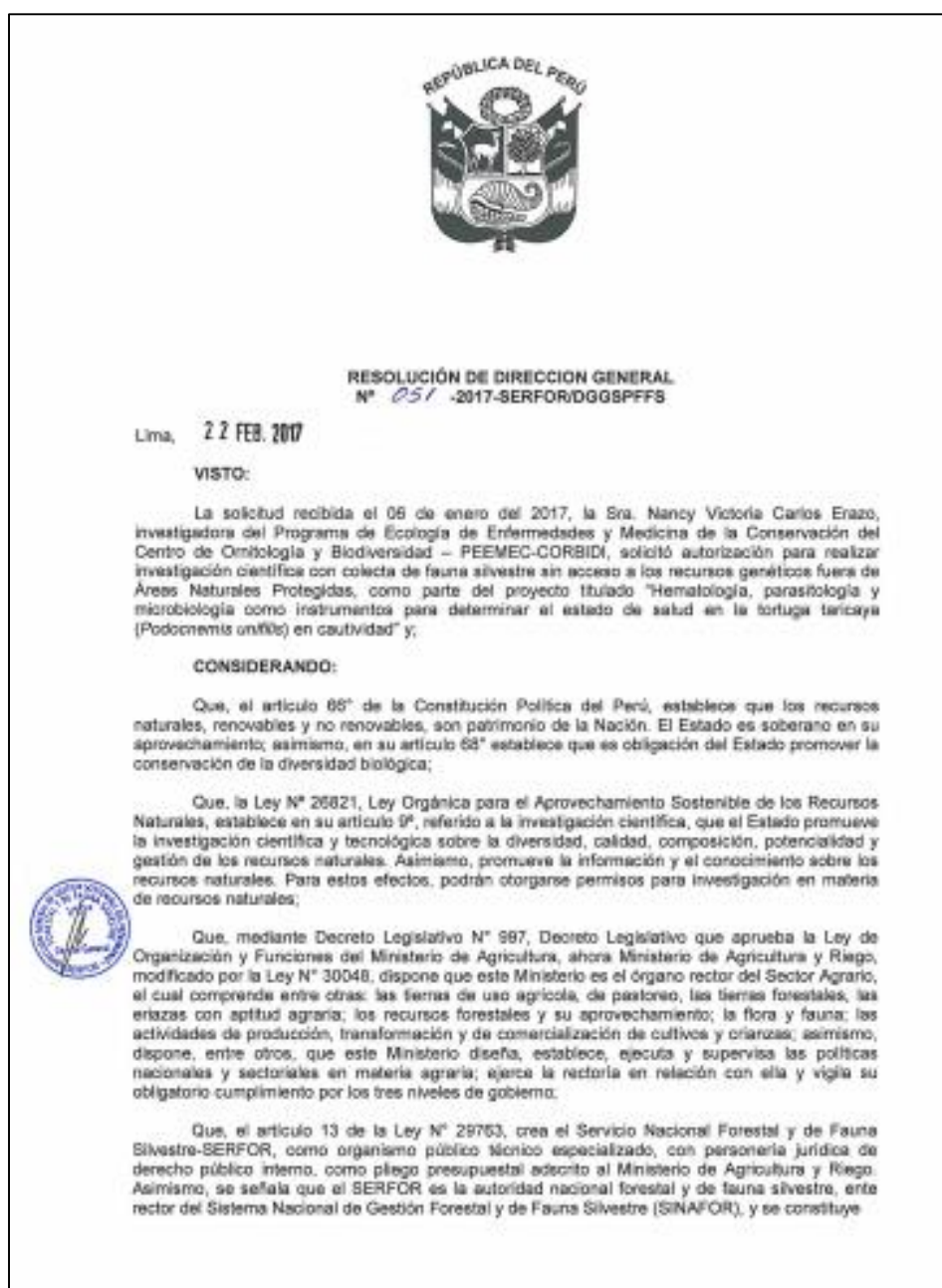


Figura 1: Resolución de Dirección General N° 051-2017-SERFOR-DGGDPFFS

Fuente: Servicio Forestal y fe Fauna Silvestre (SERFOR), 2017.

ANEXO 3



Figura 2. Instalaciones de la poza A de la tortuga taricaya (*P. unifilis*), Zoológico Quistococha, Iquitos-Perú.

Fuente: Elaboración propia, 2017

ANEXO 4



Figura 3: Instalaciones de la poza B de la tortuga taricaya (*P. unifilis*), Zoológico Quistococha, Iquitos-Perú.

Fuente: Elaboración propia, 2017.

ANEXO 5



Figura 4. Toma de hisopado cloacal de una tortuga taricaya (*P. unifilis*) en el zoológico Quistococha, Iquitos-Perú.

Fuente: Elaboración propia, 2017.

ANEXO 6

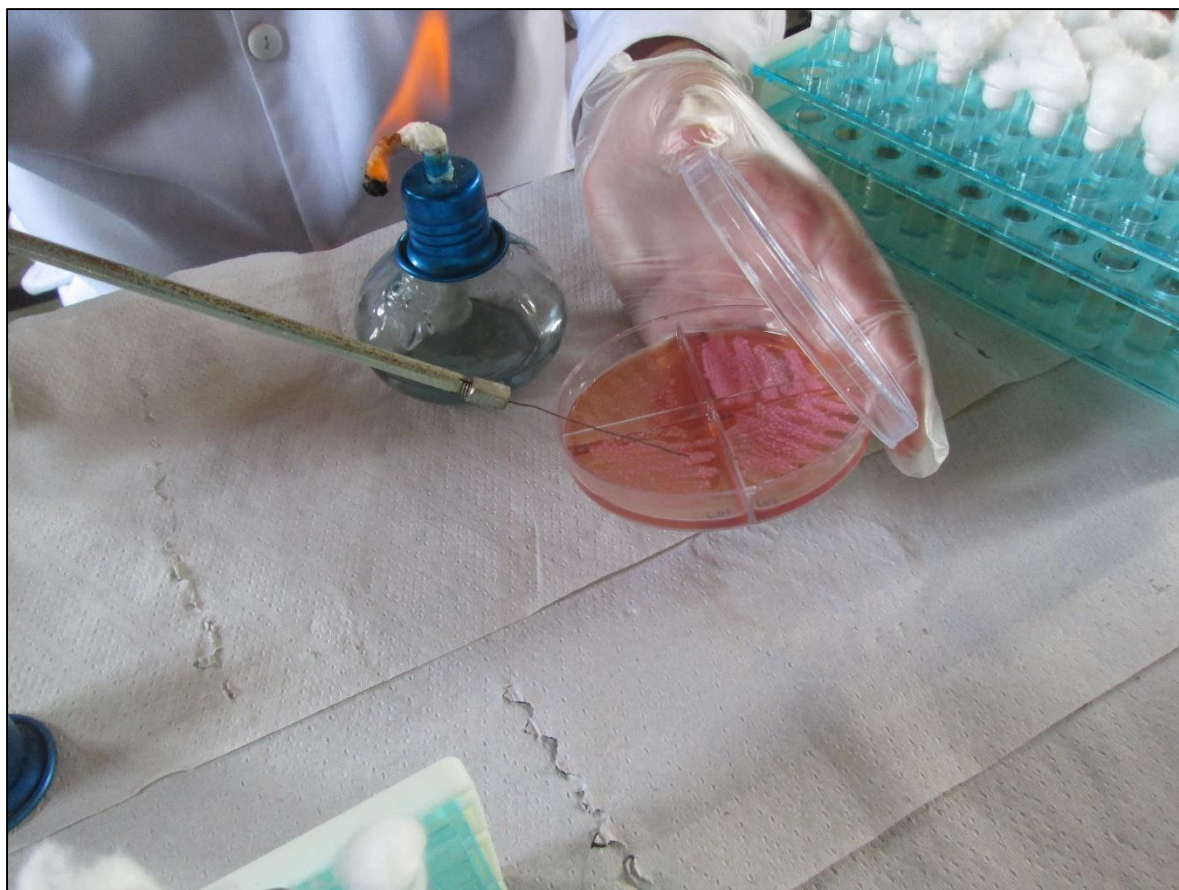


Figura 5. Selección de colonias post incubación en placas de agar MacConkey y *Salmonella-Shigella*. (SS).

Fuente: Elaboración propia, 2017.

ANEXO 7

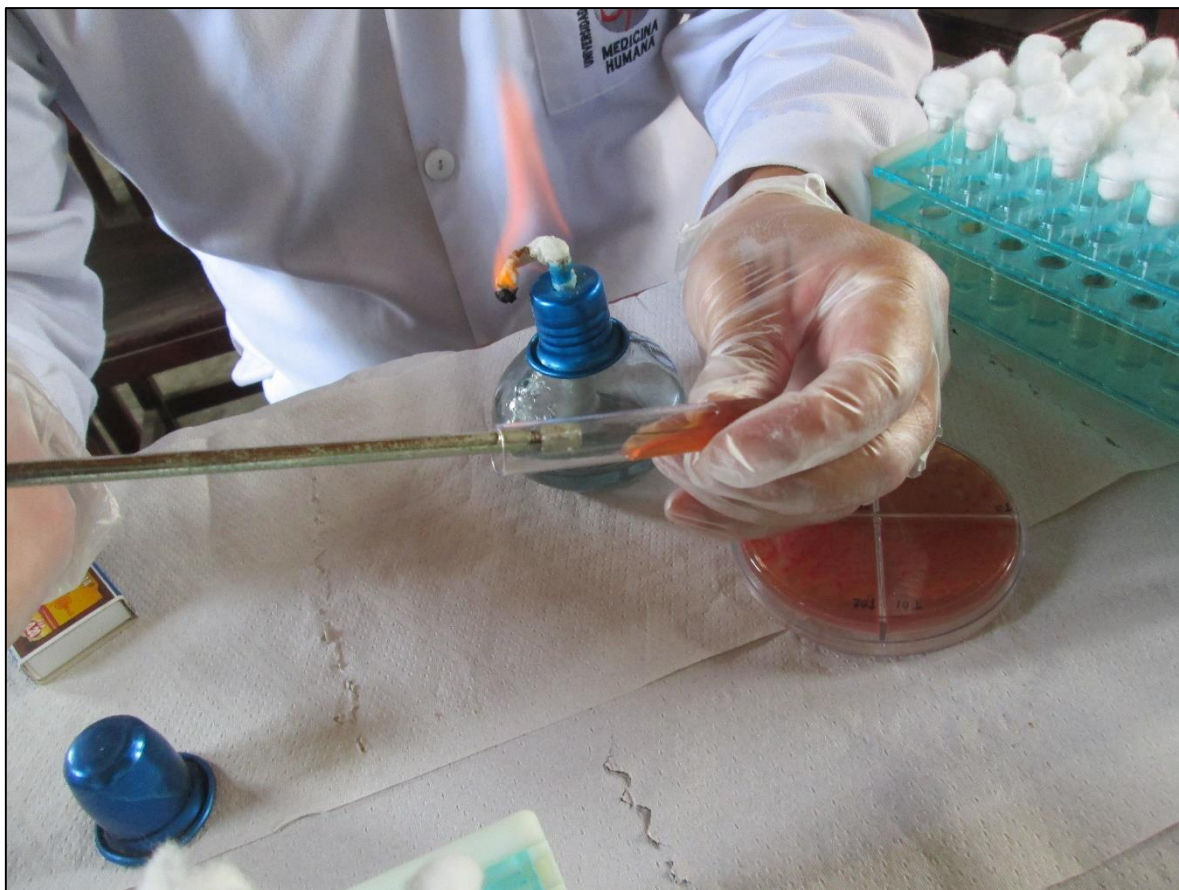


Figura 6. Siembra en medio diferencial

Fuente: Elaboración propia, 2017.

ANEXO 8

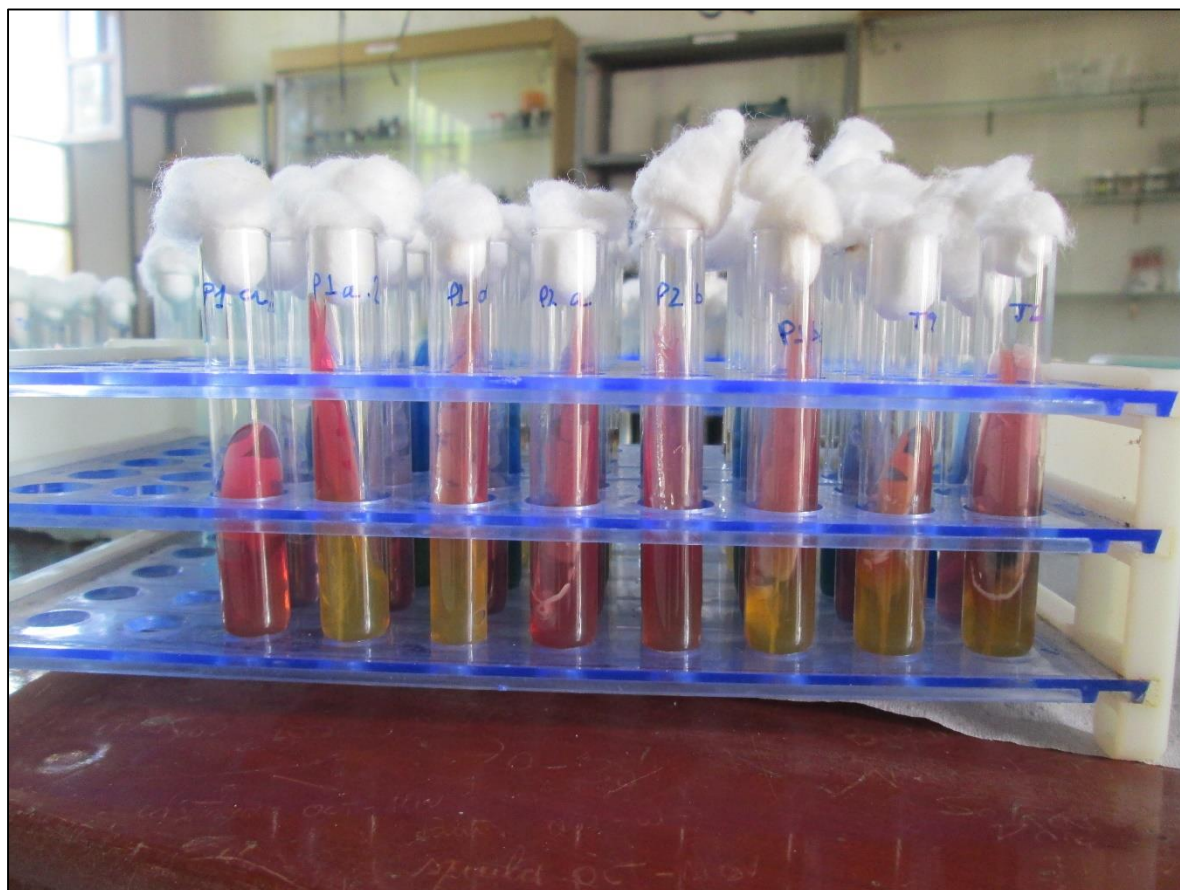


Figura 8. Lectura de reacciones bioquímicas en medios diferenciales.

Fuente: Elaboración propia, 2017.