



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

**TESIS**

**SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS BACTERIAS ASOCIADAS A  
ENFERMEDAD RESPIRATORIA EN LA TORTUGA MOTELO DE PATAS  
AMARILLAS (*Chelonoidis denticulata*) DE LA CIUDAD DE LIMA, 2019**

**LUISA ESMERALDA AÑORGA AMADO  
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO**

**LIMA-PERÚ**

**2019**

## DEDICATORIA

- A mi familia, mi mayor tesoro mi madre, por su eterna preocupación, por su amor, por su educación por ser padre, amiga y enseñarme a valorarme y valorar la vida a cada instante.
- A mis hermanos y madrina quienes nunca me negaron nada en la vida y siempre estuvieron ahí para apoyarme en todo momento, por su paciencia y cariño.
- A mi mamita querida por criarme y cuidarme como mi propia madre por tanto amor, dedicación, alegrías y momentos compartidos.
- A mi ángel de cuatro patas de quien nunca me olvidare por más que pasen los años por enseñarme a dar amor sin esperar nada a cambio y simplemente estar ahí para mí.
- Aquellos amigos de trabajo y colegas que pusieron un granito de arena al convencerme de no darme por vencida y cumplir mis anhelos, que me aconsejaron y apoyaron de distintas formas.

## AGRADECIMIENTO

- A mis profesores, amigos y colegas de la universidad por sus consejos, su paciencia y preocupación a cada instante para alcanzar mis objetivos con sus consejos y conocimientos.
- Un agradecimiento especial a mi directora de tesis la Mg. Nancy Carlos Erazo por su tiempo, su apoyo y dedicación para saber guiarme en todo momento.
- A la M.V Pamela Ross Mery Suloaga Tapia por su tiempo y apoyo para poder llevar a cabo el trabajo de campo y realizar la toma de muestras.
- Al zoológico Parque Zonal Huáscar por permitirme ingresar a las instalaciones y el acceso a los individuos.
- Al centro de Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre (SERFOR) por otorgarme el permiso para realizar mi proyecto de investigación con el fin de favorecer el estado de salud y bienestar de esta especie.

## RESUMEN

Las tortugas en cautividad son susceptibles de contraer enfermedades respiratorias, las cuales pueden tener una presentación variable y ser recurrentes, afectando la calidad de vida de los individuos. Por lo cual es necesario realizar un tratamiento adecuado, incluyendo la elección de un antibiótico efectivo según el agente. El objetivo de la investigación fue determinar la sensibilidad antimicrobiana de las bacterias asociadas a enfermedad respiratoria en la tortuga Motelo de patas amarillas (*Chelonoidis denticulata*) en cautiverio en un zoológico ubicado en la ciudad de Lima. El zoológico “Parque Zonal Huáscar” cuenta con una población de 50 individuos, para el estudio se analizaron 26 individuos con signos clínicos de enfermedad respiratoria (10 machos y 16 hembras). A partir de 45 colonias pertenecientes a 10 especies bacterianas aisladas mediante un hisopado nasal, se determinó la sensibilidad antimicrobiana utilizando la prueba de difusión por discos Kirby-Bauer. Las colonias bacterianas mostraron mayor grado de sensibilidad a la amikacina (100,00%), seguido de gentamicina (97,78%), ciprofloxacina (82,22%), ceftriaxona (80,00%), enrofloxacina (35,56%), oxitetraciclina (28,89%) y ampicilina (15,56%). La amikacina y gentamicina serán los antibióticos de elección para enfermedad respiratoria en tortugas, pero se debe usar con cautela debido a sus posibles efectos secundarios.

**PALABRAS CLAVE:** antibiograma, enfermedades respiratorias, quelonios, sensibilidad.

## ABSTRACT

Turtles in captivity are susceptible to contracting respiratory diseases, which may have a variable presentation and be recurrent, affecting the quality of life of individuals. Therefore, it is necessary to carry out an adequate treatment, including the choice of an effective antibiotic according to the agent. The aim of this research was to determine the antimicrobial sensitivity of bacterial associated with respiratory disease in the yellow-footed tortoise (*Chelonoidis denticulatus*) in captivity in a zoo located in the city of Lima. The zoo "Parque zonal Huáscar" has a population of 50 individuals, for the study 26 individuals with clinical signs were analyzed (10 males and 16 females). From 46 colonies belonging to 10 bacteria isolated by a nasal swab, the antimicrobial sensitivity was determined using the Kirby-Bauer disc diffusion test. The bacterial colonies showed a greater degree of sensitivity to amikacin (100,00%), followed by gentamicin (97,78%), ciprofloxacin (82,22%), ceftriaxone (80,00%), enrofloxacin (35,56%), oxytetracycline (28,89%) and ampicillin (15,56%). The Amikacin and gentamicin will be the antibiotics of choice for respiratory disease in turtles, but it should be used with caution due to its possible side effects.

KEY WORDS: antibiogram, respiratory diseases, chelonian, sensitivity

# ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
Dedicatoria .....	i
Agradecimiento .....	ii
Resumen .....	iii
Abstract .....	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	
2.1 Tortuga motelo de patas amarillas ( <i>Chelonoidis denticulata</i> )	3
2.1.1. Generalidades	3
2.1.2. Taxonomía	3
2.1.3. Morfología	3
2.1.4. Anatomía y Fisiología respiratoria en quelonios	4
2.1.5. Habitat y Distribución	4
2.1.6. Reproducción	5
2.1.7. Alimentación	5
2.1.8 Estado de conservación	6
2.2 Enfermedades respiratorias de origen bacteriano	6
2.2.1 Generalidades	6
2.2.2 Signos	7
2.2.3 Agentes causales	8
2.2.4 Sensibilidad antimicrobiana	9
2.2.4.1 Técnicas de sensibilidad antimicrobiana	9

2.2.4.2 Antibiograma	12
2.2.5 Tratamiento	13
2.2.5.1 Fluorquinolona	14
a) Enrofloxacin	15
b) Ciprofloxacina	16
2.2.5.2 Tetraciclinas	16
a) Oxitetraciclina	17
2.2.5.3 Aminoglucósidos	18
a) Gentamicina	18
b) Amikacina	19
2.2.5.4 Betalactámicos	20
a) Ceftriaxona	20
b) Ampicilina	21
2.3 Antecedentes	22
III. MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1 Espacio y tiempo	26
3.2 Población y muestra	26
3.3 Diseño de investigación	27
3.4 Equipo y procedimiento	27
3.4.1 Equipos	27
3.4.2 Procedimiento	29
3.5 Diseño estadístico	31
IV. RESULTADOS	32
V. DISCUSIÓN	34
VI. CONCLUSIONES	39

VII. RECOMENDACIONES	40
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXOS	46

## I. INTRODUCCIÓN

En el Perú la tortuga Motelo de patas amarillas (*Chelonoidis denticulata*) es un reptil oriundo de Sur América, localizada en la selva del Perú. Su estado de conservación es vulnerable, los principales problemas para su supervivencia están relacionados a la destrucción de su hábitat, cacería y comercio ilegal. El tráfico ilegal ha generado sobrepoblación en centros de cautividad, los cuales se ubican principalmente en la ciudad de Lima. Los reptiles tienen requerimientos especiales para su mantenimiento en cautiverio, al no ser brindadas adecuadamente son susceptible a diversas enfermedades como las de origen infeccioso (1).

Una de las enfermedad de mayor presentación en la crianza en cautiverio de quelonios o tortugas son las respiratorias, que pueden tener una presentación variable y recurrente. Situación que se presenta anualmente en el zoológico “Parque Zonal Huáscar” que mantiene una colección importante de la tortuga Motelo de patas amarillas (*C. denticulata*), parte de la población presentaron signos clínicos respiratorios que no llegan a tener remisión a pesar de la instauración de un tratamiento. Por lo cual, es necesario identificar el agente patógeno y determinar su sensibilidad frente a los antibióticos utilizados comúnmente.

Los procesos respiratorios como las neumonías y sinusitis bacterianas pueden ser causados por *Escherichia coli*, *klebsiella sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Proteus sp.*, y *Aeromonas sp.* (2). Siendo aconsejable la realización de un cultivo y antibiograma para decidir qué antibiótico utilizar. En la actualidad, las pruebas de sensibilidad antimicrobiana en reptiles son una herramienta muy importante, ya que nos permite identificar que agente patógenos están involucrados y mejorar la terapéutica, evolución y remisión de los casos.

Debido a la reincidencia de las enfermedades respiratorias en quelonios y evitar el contagio a otros individuos, así como favorecer el bienestar de las mismas, el objetivo del estudio fue determinar la sensibilidad antimicrobiana de las bacterias asociadas a enfermedades respiratorias de la tortuga Motelo de patas amarillas (*C. denticulata*) mantenida en cautiverio en el zoológico "Parque Zonal Huáscar" ubicado en la ciudad de Lima. Con este estudio, se pretende aportar conocimientos básicos e imprescindibles para un mejor manejo y sanidad de esta especie en cautiverio al contar con información sobre la sensibilidad de los diferentes antibióticos utilizados en la terapéutica de reptiles.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Tortuga Motelo de patas amarillas (*Chelonoidis denticulata*)

#### 2.1.1 Generalidades

Las tortugas terrestres pertenecen a la familia *Testudinidae*. En los bosques tropicales húmedos de Venezuela, Las Guayanas, Colombia, Perú, Bolivia y Paraguay se halla la tortuga Motelo de patas amarillas (*Chelonoidis denticulata*) (1). La cual presenta un caparazón que va creciendo a medida que esta se va desarrollando, además de ser su medio de defensa ante otras especies. Los colores, formas y diseños varían según la raza y el género (en las hembras la base del caparazón se llama plastrón y es derecho o recto, y en machos lo tienen cóncavo) (3).

#### 2.1.2 Taxonomía

Reino: Animal

Phylum: Chordata

Clase: Reptilia

Orden: Testudines

Familia: testudinidae

Género: chelonoidis

Nombre científico: *Chelonoidis denticulata*

Nombre común: Tortuga Motelo de patas amarillas

#### 2.1.3 Morfología

Las tortugas terrestres presentan un exoesqueleto que protege la zona superior o inferior, dicha característica las hace un grupo único entre todos los reptiles. Esta especie presenta un caparazón que varía en su longitud y peso según el sexo, puede medir hasta 820 mm y pesar entre 15 a 60 kg. Esta conformación esquelética es de

color negro, formado por escudos vertebrales de tonalidad amarillo-marrón. El plastrón es una estructura aplanada que forma la parte ventral del caparazón, en machos es cóncavo y en hembras plano. La piel es color negro con marcas amarillas en la zona de la cabeza, extremidades y mandíbula (3).

#### **2.1.4 Anatomía y fisiología respiratoria en quelonios**

El proceso respiratorio en quelonios se lleva a cabo a través de las fosas nasales de la tortuga. Al inspirar oxígeno, este entra por la cavidad bucal hasta la tráquea a través de la glotis (abertura superior de la laringe que funciona como punto de acceso del aire). Este grupo de estructuras forman un canal que inicia en la base de la lengua y se conecta en los últimos niveles con los bronquios y alveolos pulmonares, por lo cual el oxígeno entra de manera directa llevándose a cabo el proceso de respiración. Pese a que estos individuos no poseen un diafragma con sistema muscular, como otras especies, en algunas ocasiones suelen utilizar las extremidades superiores e inferiores como fuerza de expulsión, metiéndolas y sacándolas para obtener la contracción de los mismos (4).

En la zona dorsal de la cavidad celómica los pulmones ocupan gran volumen. Presentan un solo bronquio que está formado por alveolos y bronquiolos (4).

Los alveolos son totalmente compartimentados, produciendo el cambio de oxígeno en la superficie reticulada. En esta especie existe una membrana pleuroperitoneal que separa los pulmones de las vísceras, además no presentan un verdadero diafragma que no exige presión negativa para respirar. Cumpliendo de esta manera una correcta función en la fisiología respiratoria en quelonios (2) (Anexo 1).

#### **2.1.5 Hábitat y distribución**

Esta especie es propia de América del Sur y algunas islas del Caribe. En el continente su distribución comprende parte de: Guayana Francesa, Venezuela, Surinam,

Colombia, Ecuador, Bolivia, Perú y Brasil. Además, se localizan en las islas del Caribe de Trinidad y Tobago (5).

Esta especie terrestre habita en las selvas tropicales, ubicándose en la zona tropical húmeda y en regiones de Pie de monte. Se entierra en hojas húmedas de orillas de lagos y de ríos, prefiere aguas con un fondo lodoso en la selva de la Amazonia. Está localizada en bosques secundarios, bordes de carretera o en bosques cerca de ríos (5).

### **2.1.6 Reproducción**

La época de reproducción en su hábitat natural inicia durante la primavera y el verano, en donde las condiciones ambientales son más favorables, sin embargo, en cautiverio esta época no está definida ya que la humedad y temperatura se mantienen permanentes durante todo el año (3).

En los meses de reproducción las hembras se encuentran receptivas para la cópula y los machos comienzan a perseguirlas insistentemente. Se dice que cuanto más grande son hay una mayor producción de huevos, incrementando su reproducción de manera óptima (2).

En promedio, una hembra puede procrear entre 7 a 18 huevos por año, aunque algunas hembras no se pueden reproducir cada año. Los huevos están formados por una cáscara delicada y se expande esféricamente, son de aproximadamente de 3 a 6 cm de diámetro. El tamaño de los huevos depende de la longitud del cuerpo de la tortuga hembra. Los jóvenes pueden llegar a vivir unos 50 a 60 años (2).

### **2.1.7 Alimentación**

La alimentación en quelonios es variable, no se alimentan diariamente y dependen mucho de las temperaturas ambientales (6). Cuando esta especie se encuentra en cautiverio, la dieta no debe depender de uno o dos tipos de alimento, por el contrario,

necesitan cierto porcentaje de vegetación rico en fibra y calcio, y bajo de grasas y proteínas, una alimentación a partir de forrajes naturales y vegetales silvestres como hierbas y flores. Además, necesitan acceso de agua fresca para beber y bañarse. Para de esta manera conseguir el desarrollo e inmunidad ideal para la especie y su población (7).

### **2.1.8 Estado de conservación**

Según la Lista Roja elaborada por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (Red List UICN) la tortuga Motelo de patas amarillas esta categorizada en situación Vulnerable (Vu) (8). La Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) incluye a esta especie en su Apéndice II (8). Además, el Decreto Supremo 004-2014-MINAGRI que aprueba la actualización de la lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre legalmente protegidas, no incluye a esta especie considerando que no se encuentra en peligro de extinción dentro del territorio peruano (8).

## **2.2 Enfermedades respiratorias de origen bacteriano**

### **2.2.1 Generalidades**

Las enfermedades del tracto respiratorio superior es una de las afecciones más comunes en la tortuga (*C. denticulata*). Según Martínez y Soler (2008) estas alteraciones se deben a cambios bruscos de temperatura o una temperatura inadecuada de su habitat, malnutrición, estrés e infecciones causadas por agentes patógenos (9). Entre los principales problemas respiratorios que presentan los reptiles en cautiverio se encuentra la neumonía y sinusitis bacteriana, que pueden se causadas por *Pseudomonas sp.*, *E. coli*, *Klebsiella sp.* y *Mycoplasma sp.* Estos microorganismos infectan las membranas y las vías respiratorias de la mucosa causando una respuesta inflamatoria inmunomediada significativa en muchas tortugas (10).

Según Jiménez (2009), una de las enfermedades más frecuentes en reptiles es la neumonía, considerada como una patología crónica y de frecuente presentación en la clínica de animales de compañía y especies de zoológico (11).

Por tal motivo, el protocolo a seguir es realizar pruebas diagnósticas como un cultivo y antibiograma para determinar la sensibilidad antimicrobiana y llevar a cabo un tratamiento eficaz con antibióticos de amplio espectro que serán seleccionados conforme el o los agentes patógenos que está produciendo dicha enfermedad.

### **2.2.2 Signos**

Los signos clínicos en las enfermedades respiratorias son muy variables. Algunas tortugas tienden a presentar un proceso leve pero recurrente después de cada hibernación; otros quelonios toleran un proceso agudo que termina en crónico. Hay que tener en cuenta que algunos individuos no presentan síntomas, pudiendo haber portadores sintomáticos. Las afecciones se caracterizan por síntomas del aparato respiratorio superior. Ocasionando una leve descarga óculo nasal, en animales con buen estado, hasta secreciones mucopurulentas en animales con la salud comprometida (10).

Los síntomas más comunes son la presencia de abundante exudado seroso, burbujas, mucosas por las narinas afectando a los órganos anexos ojos y parpados, mucosidad en nariz y boca, dificultad para respirar, boca abierta en forma continua, deshidratación e inapetencia (12).

### 2.2.3 Agentes causales

La etiología de los problemas respiratorios puede ser de origen bacteriano (causada por bacterias oportunistas). En la mayoría de casos se ha observado *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli.*, *Pseudomonas spp.*, *Pasteurella spp.*, *Aeromonas spp.* Y *Proteus spp.* Morafka y colaboradores (1986) identificaron que la mayoría de las bacterias encontradas en quelonios terrestres pertenecen a las familias Enterobacteriaceae y Pseudomonadaceae, provocando graves pérdidas tanto en vida libre como en cautiverio (13).

El proceso de producción e infección de las enfermedades por parte de estas bacterias se debe a que las cepas con baja patogenicidad afectan de manera rápida los tejidos debido a la inmunosupresión que sufre el huésped y por otro lado a la alta resistencia a los antibióticos que de manera natural presenta el género *Pseudomonas*. Según Ruiz (2007), el género *Pseudomona spp* es conocido por su capacidad rápida de crecimiento (temperaturas óptimas para la mayoría de estas bacterias es de 30°C-37°C), así como la habilidad de metabolizar una variedad amplia de sustratos como hidrocarburos alifáticos y aromáticos. También se le conoce por su capacidad de formar morfologías coloniales variadas, distintivas y pigmentadas (14).

Por otro lado, el incremento de la resistencia antimicrobiana que representa el manejo de antibióticos en la parte clínica ha permitido el desarrollo de cepas con mecanismos de resistencia que, en muchas situaciones, nos dejan sin ninguna opción para el tratamiento de las infecciones. En la actualidad los antimicrobianos reducen las posibilidades de tratamiento eficaz de enfermedades, obligándonos a utilizar medicamentos costosos, además de prolongar el periodo de rehabilitación (cuarentena) e incrementar el riesgo de mortalidad (15).

Al plantear la problemática de la resistencia microbiana resulta de mucha importancia el diagnóstico rápido y eficaz para un correcto uso de antibióticos. Es un fenómeno que sucede tanto en humanos como en animales de toda especie y su estudio en el Perú es importante para el bienestar animal (16).

#### **2.2.4 Sensibilidad antimicrobiana**

El estudio de la sensibilidad antimicrobiana a los antibióticos es una de las funciones más importantes de los laboratorios de microbiología clínica. Dentro de los beneficios que presenta se encuentran:

- Dirigir la terapéutica una vez que la bacteria sea reconocida.
- Generar una base de datos que permita seleccionar los antibióticos a utilizar en un tratamiento empírico (aquel donde no se conoce el agente causal)
- Desarrollar el uso de antimicrobianos.
- Vigilar la aparición de nuevos mecanismos de resistencia.
- Detectar la diseminación epidémica de una cepa, tanto a nivel hospitalario como comunitario (17).

La determinación de la sensibilidad antimicrobiana no implica solo realizar un conjunto de técnicas y medir los resultados, es necesario saber interpretar los mismos y darles el significado que realmente tienen.

##### **2.2.4.1 Técnicas de sensibilidad antimicrobiana**

Para realizar las pruebas de sensibilidad, se cuenta con los siguientes métodos:

###### **A) Difusión en agar (Técnica de Bauer y Kirby)**

La técnica de difusión en agar, es cualitativa y sus resultados se pueden interpretar como sensible, intermedios o resistentes y está diseñada específicamente para bacterias de crecimiento rápido como los *Staphylococcus* sp. En esta técnica el inóculo es llevado a una concentración igual a la del estándar 0,5 de McFarland, se aplica sobre la superficie de una placa seca de

agar Mueller-Hinton que tenga un pH entre 7,2 y 7,4 medido a temperatura ambiente y una vez solidificado el medio de cultivo. La sepa se debe de rayar sobre la superficie del medio de forma tal que se logre un crecimiento confluyente. Una vez realizado esto, en un plazo no mayor de 15 minutos, se procede a colocar los discos o las pastillas con el antibiótico (18).

B) Método de dilución en agar:

Es una técnica únicamente cualitativa que se encarga de controlar el medio de cultivo, el inóculo bacteriano y el antibiótico.

En la técnica de dilución en agar, se preparan tubos con la concentración definida de antibiótico y se le agrega a cada tubo una cantidad conocida del agar Mueller.Hinton, este tubo homogeniza y se chorrea en una placa de Petri vacía con lo que se logra una placa de agar Mueller-Hinton con el antibiótico diluido a una concentración determinada.

C) Macrodilución en caldo:

Esta técnica se deriva de la anterior, pero no se utiliza por la cantidad de material que emplea, y porque presenta el grave problema de la dificultad para detectar contaminaciones del medio de cultivo, lo que podría producir una falsa resistencia.

D) Microdilución en caldo:

Con esta técnica se puede determinar dos diferentes valores: la CMI y la CMB la CMI está definida como la mínima concentración de antibiótico que inhibe el crecimiento posible de un inóculo bacteriano estandarizado. La CMB es la mínima concentración de un antibiótico que mata el 99,9% de las bacterias de un inóculo inicial.

El primer paso para proceder al montaje de una CMI/CMB utilizando la técnica de la microdilucion es colocar 50 ul del medio de cultivo en cada uno de los pozos de la placa a emplear, luego se colocan 50 ul de la solución madre del antibiótico. Una vez lista la placa, se hace una serie de diluciones del inóculo se realiza el plateo final en un medio de cultivo apropiado a la cepa y se incuba en las condiciones apropiadas hasta el otro día. Luego de este periodo de incubación, se cuentan las ufc, se multiplican por la dilución y se obtiene la concentración (ufc/ml) del inóculo empleado.

E) Epsilon test (E test):

Este método emplea una tira con una matriz plástica que tiene una concentración decreciente de un antibiótico determinado. El medio que se usa es agar sangre con sangre de caballo al 5% y con una base de Muller-Hilton o puede utilizarse en agar HTM o agar chocolate suplementado. Esta técnica determina la CMI de manera más rápida y fácil, actualmente se pueden adquirir tiras de E test para pruebas de sensibilidad de las bacterias tradicionales y de las especiales como organismos bacterias tradicionales y de las especiales como organismos anaerobios, *Campylobacter sp*, *Helicobacter pylory* y *Micobacterium tuberculosis*.

F) Métodos automatizados:

Para esta técnica se usa plástico transparente para la prueba de sensibilidad. Se trata de tarjetas de 30 pozos que llenan con el inóculo bacteriano estandarizado, mediante una bomba de vacío y luego las tarjetas son selladas herméticamente, se introducen a un incubador a 35°C y cada 10 minutos el sistema hace una lectura y se mide la concentración del inóculo bacteriano. Cada tarjeta tiene un pozo control positivo de crecimiento y es este pozo donde se construye una curva normal de crecimiento bacteriano (18).

Para poder identificar el agente patógeno de las enfermedades respiratorias en quelonios es importante realizar un correcto plan diagnóstico mediante un antibiograma a partir de las secreciones de los quelonios con problema respiratorio con el fin de elegir el mejor tratamiento para esta especie (2).

A primera vista muchas enfermedades de proceso respiratorio pueden parecer morfológicamente iguales, pero la obtención de la información necesaria nos lleva a establecer un correcto diagnóstico. Por ello, la base para lograr resultados óptimos es seguir un método protocolizado y sistemático, aquel que inicia desde una buena historia clínica, exploración física, diagnósticos diferenciales, pruebas diagnósticas y un

plan terapéutico. Con la finalidad de llegar a un correcto diagnóstico y el tratamiento ideal para la especie y su población.

### **2.2.5 Antibiograma**

El antibiograma sirve para determinar la sensibilidad de una colonia de bacterias o un grupo de antibióticos. Se realiza mediante una toma de muestras como exudado, raspado o toma de líquido de alguna cavidad del individuo afectado. Posteriormente se procede a determinar la resistencia de la bacteria aislada a uno o varios antibióticos frente a los microorganismos responsables de las infecciones. Brenner y colaboradores (2002) mencionaron que realizar pruebas de antibiograma específico es de suma importancia, ya que no todas las bacterias en quelonios son sensibles a los mismos antibióticos, de esta manera se elegiría el tratamiento óptimo (19).

La prueba de sensibilidad utilizando el procedimiento del disco es una técnica descrita por Bauer, Kirby, Sherris y Turk; es el método ideal que se recomienda para el aislamiento de bacterias ya que es rápido, práctico y eficaz. Los procedimientos de diluciones en agar son satisfactorios para hallar la concentración mínima de los antimicrobianos (15). (Anexo 2).

Para ello es necesario utilizar los patrones de McFarland, el cual se utiliza como patrones de turbidez en la preparación de suspensiones de microorganismos. Para elaborar la densidad del inóculo se usa una suspensión de sulfato de bario (0,5 de la escala de McFarland) esta preparación es importante para la realización de pruebas de sensibilidad antimicrobianas (20).

Una vez que se culmine con el procedimiento de sensibilidad antimicrobiana se procederá a dar lectura interpretativa del antibiograma y a la categorización de los principales antibióticos, los valores críticos de las concentraciones altas (c) y bajas (C) y de sus diámetros correspondientes (d, D) (18). Por otra parte los antibiofenotipos de sensibilidad y resistencia permiten recategorizar un resultado inicialmente Sensible, intermedio o Resistente debido a que en muchas ocasiones el tratamiento no es el ideal para esta especie. Esta lectura requiere de la interpretación correcta de la bacteria y a la vez una correcta realización del antibiograma (20). (Anexo 3).

La lectura del antibiograma es de vital importancia, tanto por el interés del paciente, el médico tratante, así como en una perspectiva de responsabilidad pública. Para una adecuada comprensión de este, se debe dominar conocimientos, tanto como los mecanismos de resistencia bacteriana involucrados y del comportamiento biológico de algunos agentes antimicrobianos (20).

### **2.2.5 Tratamiento**

En quelonios el metabolismo funciona más eficazmente cuando su temperatura corporal está dentro del rango (30-37°C) (13). Por tal motivo, corregir el medio ambiente y factores de estrés de los individuos, puede ayudar a eliminar la probabilidad de que se presente la neumonía, teniendo en cuenta el periodo de cuarentena y una correcta desparasitación creando así medicina preventiva (13).

En enfermedades como sinusitis y neumonías bacterianas se pueden aplicar mucolíticos o fluidificantes de la mucosidad, mediante inyectables, nebulizaciones de estos productos, o instalación directa de la cavidad nasal. El uso de antibióticos será empleado para el control de las infecciones bacterianas con la finalidad de evitar el contagio y la muerte de los individuos por septicemia (14).

Por tal motivo, el tratamiento a base de antibióticos de amplio espectro es el ideal para combatir las posibles infecciones que causan los agentes patógenos en problemas respiratorios. Dentro de ellos tenemos: enrofloxacin, ciprofloxacina, oxitetraciclina, gentamicina, amikacina, ceftriaxona, entre otros. A continuación, se realizará la revisión de la acción y resistencia de algunos antimicrobianos comúnmente utilizados en la clínica de reptiles.

### **2.2.5.1 Fluorquinolonas**

Según Lees y Aliabadin (2003), las fluoroquinolonas son compuestos sintéticos que están formados por propiedades antimicrobianas que funcionan como inhibidores de los ácidos nucleicos. Su acción antimicrobiana es amplia y efectiva frente a bacterias aerobias Gram negativas y algunas Gram positivas (21).

Las fluoroquinolonas atraviesan la membrana citoplasmática que facilita la liposolubilidad de este fármaco según lo mencionado por Lee y Shojaee (2003); logrando afectar la síntesis de proteína retirando la enzima topoisomerasa que tiene como función el desdoblamiento del ADN (21,22).

Según Strahielvitz y colaboradores (2009) mencionaron que las enterobacterias presentaron una mayor resistencia a las quinolonas lo cual se ha ido incrementado en la actualidad (23).

Webber y Piddock (2001) hallaron que el mecanismo de resistencia a las fluorquinolonas se da por un cambio del ADN girasa. Esta resistencia se lleva a cabo por mutaciones cromosómicas en la Región Determinante de Resistencia a Quinolonas del gen *gyrA* (24).

### **a) Enrofloxacin**

Gobernado y colaboradores (1999) refieren que la enrofloxacin es un fármaco ampliamente utilizado en diversas especies su función radica en eliminar la acción de la ADN girasa, relacionada en la replicación, recombinación y reparación del ADN del agente bacteriano (25).

Este antibiótico es utilizado en el tratamiento de las infecciones de los órganos respiratorios y digestivos, del aparato urinario, del oído y de la piel en varias especies de animales como perro, gato, aves, ganado y especies exóticas. Las dosis varían según especie y agente infeccioso, en el caso de tortugas terrestres la dosis correspondiente a usar es de 5 a 10 mg/kg por vía intramuscular cada 12 horas. La duración del tratamiento es de 4 a 5 días y la vida media de este fármaco es de 7.3 horas (26).

Según Marder 1996 los quelonios alcanzan niveles séricos en 30 a 60 minutos por vía intramuscular y de 2 a 3 horas por vía oral, pero esto varía según la especie del individuo a tratar. La enrofloxacin tiene mayor tiempo de acción en *Terrapene spp.* Comparada con *Testudo hermanni*. (27).

## **b) Ciprofloxacina**

Gobernado y colaboradores (1999) mencionaron que la ciprofloxacina es un fármaco perteneciente al grupo de las fluoroquinolonas, su acción bactericida se da mediante la membrana citoplasmática y las porinas de la bacteria hasta llegar al citoplasma. Inhiben la enzima ADN girasa en bacterias Gram negativas y de la topoisomerasa IV en bacterias Gram positivas (25).

Esta fluorquinolona es utilizada para el tratamiento de diversas infecciones tales como infecciones de las vías urinarias, tracto respiratorio, piel, huesos y articulaciones. La vida media de este fármaco es de 7,3 horas y la dosis es de 5 a 10mg/kg cada 12 horas. La duración del tratamiento es de 4 a 5 días. En el caso de la tortuga mediterránea (*Testudo hermanni*) la dosis recomendada de ciprofloxacina es de 10mg/kg aplicada por vía intramuscular cada 24 horas, dicha dosis y su frecuencia de administración se basaron en las concentraciones de sangre y al tipo de bacterias aisladas dentro de las cuales se encontraron *Klebsiella*, *P aeruginosa* y *Salmonella* (26).

Según Perichon y colaboradores (2007), el mecanismo de resistencia de esta quinolona es mediante la reducción de la permeabilidad de la membrana por alteraciones que perjudican a las porinas (28).

### **2.2.5.2 Tetraciclina**

Según Goldman y colaboradores (1983), las tetraciclinas actúan inhibiendo la síntesis de proteínas en las células de las bacterias. Dicho procedimiento se da impidiendo la unión del aminoacil-ARN de transferencia (ARNt) al sitio A del ribosoma (29).

El uso constante de este fármaco aumenta la resistencia antimicrobiana restringiendo de esta manera su acción (28). 30 según Koo y Woo (2011) refieren que la bacteria *E coli* se haya resistente a las tetraciclinas por la presencia de los genes tet y por su alta frecuencia en pacientes (31).

### **a) Oxitetraciclina**

Fármaco con acción bactericida y bacteriostática que actúa sobre bacterias Gram negativas y Gram positivas, muchas de ellas están relacionadas a enfermedades respiratorias, genitourinarias y cutaneamucosas (32).

La dosis terapéutica en la mayoría de las especies es de 50 mg/kg. En el caso de quelonios la dosis ideal puede iniciar desde 50mg/kg y luego 25mg/kg administrado por vía intramuscular cada 24 horas cada 3 días (para infecciones por *Staphyococcus* y *Klebsiella*). En un estudio realizado en la tortuga mediterránea (*Testudo hermanni*), *P aeruginosa* y *Salmonella* resultaron resistentes a oxytetraciclina (26).

La resistencia más frecuente es el sistema de bomba de reflujo presente en las bacterias Gram negativas que son proteínas transportadoras de membranas, organizadas en superfamilias y distribuidas únicamente entre organismos procariontes y eucariotes. Según lo referido por Chopra y Roberts (2001), los genes que codifican para las bombas de reflujo pueden estar localizados en el cromosoma bacteriano o elementos genéticos transmisibles como plásmidos (30).

### **2.2.5.3 Aminoglucósido**

Shakil y colaboradores (2008) mencionan que el mecanismo de acción de los aminoglucósidos se basa en interrumpir la continuidad de síntesis proteica clasificándose dentro del grupo de bactericidas (33). Según lo mencionado por Durante-Mongoni y colaboradores estos fármacos se relacionan a la dosis que se emplea ante numerosos agentes bacterianos (34).

#### **a) Gentamicina**

Este aminoglucósido inhibe la síntesis proteica fijándose de esta manera a la subunidad 30s del ribosoma, interfiriendo en la elongación peptídica y pueden incitar una traducción equivocada del ARNm, dando lugar a la síntesis de proteínas anómalas y no funcionales (34).

La gentamicina se emplea como antibiótico para erradicar infecciones contra bacterias sensibles que contaminan la sangre, tracto respiratorio, piel, senos paranasales, oído y vejiga. Este fármaco es uno de los antibióticos más utilizados en el tratamiento de reptiles con infecciones microbianas Gram negativas. Sin embargo, dicho Aminoglucosido tiene un rango terapéutico seguro y limitado, ya que se han hallado estudios de casos de nefrotoxicidad en reptiles en especial en serpientes. Por ello es necesario tener en cuenta el peso de la especie a tratar y la dosis ideal de cada fármaco a emplear. En el caso de tortugas, la dosis varía de 5 a 10mg/kg por vía intramuscular cada 48 horas el tratamiento puede durar de 2 a 5 días (26).

Según Mingeo-Leclercq y colaboradores (1999), el mecanismo de resistencia en el caso de la gentamicina incluye la disminución intracelular de dicho fármaco, ocasionada por alteraciones de la membrana externa que dificulta la entrada de la sustancia a la bacteria (35).

## **b) Amikacina**

Es un aminoglucósido derivado de la kanamicina. Su mecanismo de acción se debe a su capacidad para penetrar la bacteria y unirse a las subunidades 30S y 50S de los ribosomas, ocasionando de esta manera una mal interpretación de t-RNA, dejando que la bacteria no tenga la capacidad para sintetizar proteínas vitales para su crecimiento (26).

Útil en infecciones ocasionadas por bacterias Gram negativas como *Pseudomonas sp.*, *Proteus sp.*, *Escherichia coli*, *Providencia sp.*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia sp.*, *Acitenobacter* y *Citrobacter freundii*. La amikacina se utiliza para tratar ciertas infecciones bacterianas graves. No es ideal para el tratamiento de infecciones rutinarias debido a la potencial ototoxicidad y nefrotoxicidad, por tal motivo es de suma importancia monitorear a los pacientes siempre que sea posible para evitar algún tipo de daño renal u otro organismo. Saber el peso exacto de la especie a tratar nos ayudara a obtener la dosis ideal a aplicar, en casos de quelonios la dosis recomendada a usar es de 5 a 10mg/kg cada 48 horas de 2 a 5 días utilizando las vías intravenosa o intramuscular con temperatura medio ambiental de 28 a 30°C (26).

Según Mingeo-Leclercq y colaboradores (1999), el mecanismo de resistencia de la Amikacina es similar a la gentamicina ya que son fármacos pertenecientes a la misma familia. Este proceso incluye la disminución intracelular del aminoglucósido, ocasionada por alteraciones a nivel de la membrana externa que dificultan la entrada de la droga a la bacteria. Esta alteración se da por mutaciones en los genes que codifican los sitios de unión de los aminoglucósidos en el ribosoma (35).

#### **2.2.5.4 Betalactámicos**

García y colaboradores (1999) mencionan que los betalactámicos, cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana, constituyen la familia más numerosa de antimicrobianos y la más utilizada en la práctica clínica, incluyendo derivados de la penicilina y cefalosporina. Se trata de antibióticos de acción bactericida lenta y de escasa toxicidad a diferencia de otros antibióticos comúnmente utilizados (36).

#### **f) Ceftriaxona**

Según Calvo y Martínez-Martínez (2009), este antibiótico cumple una función bactericida, impidiendo la síntesis de la pared celular en bacterias Gram negativas y Gram positivas (37).

Según Mcdermott y colaboradores (2003), estos fármacos tienen un espectro menos amplio contra las bacterias Gram positivas y es más activa contra bacterias Gram negativas como *E coli* que consiste en la producción de betalactamas codificadas en el ADN cromosómico (38). Se utiliza en el tratamiento contra *Pseudomonas aeruginosa*,

infecciones del tracto respiratorio, piel, tejidos blandos, tracto urinario, infecciones óseas y articulares, la dosis a usar es de 20 a 40mg/kg cada 24 horas usando la vía intravenosa o intramuscular durante 7 a 14 días (26).

La resistencia de este fármaco se da por las betalactamasas producidas por microorganismos (sobre todo las denominadas de amplio espectro) estas enzimas son codificadas por plásmidos e hidrolizan el anillo betalactámico haciéndolo inactivo, impidiendo de esta manera su penetración a través de la pared celular bacteriana (26).

### **b) Ampicilina**

Es un fármaco indicado para el uso contra bacterias aerobias y anaerobias Gram positivas entre los microorganismos más susceptibles tenemos: *estreptococos* betahemolíticos, las espiroquetas y algunos bacilos aerobios Gram negativos. Las penicilinas actúan inhibiendo la síntesis de mucopeptido en la pared celular, haciendo a la bacteria inestable (26).

Ideal para el uso de problemas respiratorios, digestivos, urinario y piel especial para uso de reptiles sobre todo en casos de tortugas utilizando dosis de 50mg/kg vía intramuscular cada 12 horas (26).

La resistencia a la ampicilina se da cuando presenta una permeabilidad reducida a nivel de los cromosomas, ocasionando de esta manera la resistencia a bacterias Gram positivas y Gram negativas como: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y bacterias entéricas (39).

### 2.3 Antecedentes

Muro y colaboradores (1998) realizaron un estudio sobre rinitis crónica en tortugas terrestres mediterráneas. Evaluaron la flora bacteriana de la orofaringe de 19 ejemplares de tortuga mora (*Testudo graeca*) y tortuga mediterránea (*Testudo hermanni*), de los cuales 7 quelonios presentaron signos de rinitis. Se aislaron 38 bacterias en las tortugas sanas y 19 en las enfermas, pese a ello no se encontraron mayores diferencias de *Pasteurella testudinis*, *Morganella* spp., *E coli*, *Pseudomona* spp., y *Klebsiella* spp., las cuales han sido aisladas en tortugas afectadas a dicho problema respiratorio, siendo la primera bacteria a la que se relaciona la mayoría de las infecciones secundarias (12).

Castillo (2015) realizó un estudio para determinar la resistencia a antimicrobianos de *Pseudomona* spp. De los reptiles de un acuario en la provincia de Tungurahua (Ecuador). Las especies estudiadas fueron la boa Arcoíris (*Epicrates cencrha*), mantona (*Boa constrictor*), charapa (*Podocnemis expansa*), Iguana (*Iguana iguana*), tortuga taparrabo (*Kinosternon leucostomum*), tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*) y tortuga motelo de patas amarillas (*Chelonoides denticulata*) Se realizó un hisopado de la cavidad oral y cloacal, identificando a las especies de *Pseudomonas* spp, y para el antibiograma se utilizó la técnica de discos Kirby Bauer en Agar Mueller- Hinton. En la cavidad oral de los reptiles, se encontraron las 6 especies de *Pseudomonas*, y con diferentes porcentajes de sensibilidad ciprofloxacina (100%), gentamicina (100%), estreptomycin (100%), presentaron en menor grado, enrofloxacin (68%), tetraciclina (68%) y cefotaxima (64%). Alto grado de resistencia a: ampicilina (100%), cefalotina (100%), penicilina (100%), trimetropin sulfametaxol (76%) y amoxicilina-ac glabulanico (72%), el único antimicrobiano que mostro un patrón intermedio fue clorafenicol (48%) (40).

García de la Peña y colaboradores (2016) realizaron un estudio relacionado a bacterias patógenas y su sensibilidad a antibióticos, a una población de quelonios del Bolsón

(*Gopherus flavomarginatus*) en cautividad localizada en la unidad regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA) en Durango (México). Se tomaron muestras de distintos sitios de su cuerpo, en la que se utilizó un hisopo estéril. Para realizar las pruebas de sensibilidad antimicrobiana se utilizaron Multidisco Gram positivo II y Gran negativo II BioRad. En total se aislaron 18 especies de bacterias, 10 Gram positivas y 8 Gram negativas. Todas las bacterias aisladas mostraron sensibilidad a la gentamicina, la cual es un antibiótico de amplio espectro comúnmente utilizados en tortugas terrestres para el problema de vías respiratorias. Por el contrario, todas las bacterias Gram negativas mostraron mayor sensibilidad con un 100% a cuatro antibióticos: amikacina, gentamicina, levofloxacina y trimetoprim-sulfametoxazol. Las especies Gram negativas más sensibles a los antibióticos fueron: *Burkholderia cepacia*, *Citrobacter freundii* y *Escherichia coli* (13).

Torrejón (2016) realizó una investigación cuyo objetivo fue hallar los genes frente a la resistencia antimicrobiana en *Salmonella spp.* aisladas en reptiles en cautiverio, en Chile. Para ello se investigaron 11 genes independientes de su fenotipo, se procedió a corroborar la resistencia en todas las cepas viables, mediante el método de Kirby Bauer, de esta manera se utilizaron los siguientes antimicrobianos: estreptomicina, tetraciclina, ampicilina y cloranfenicol, para poder determinar la sensibilidad, sensibilidad intermedia y resistencia. Como resultado de dicho trabajo de investigación el 20,5% de las cepas en estudio mostraron sensibilidad intermedia a estreptomicina, y una sola cepa fue resistente, por lo que en total un 23,5% de las cepas se consideraron resistentes a este antimicrobiano. Para el resto de los antimicrobianos, todas las cepas fueron sensibles (41).

Da Silva y colaboradores (2017) realizaron una investigación con el objetivo de determinar la sensibilidad y resistencia a los antimicrobianos en la tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*) El estudio se realizó con 20 ejemplares adultos (10

machos y 10 hembras) provenientes del centro de Triage de Animales Silvestres (CETAS) del parque ecológico de Tiete en Sao Paulo (Brasil). Los hisopos cloacales se cultivaron en un agar suplementado con sangre de oveja 8% y se incubaron durante 48h a 37°C. La sensibilidad a antimicrobianos se determinó a través del método de difusión en disco de Kirby Bauer, utilizando los discos de estreptomicina, cefalexina, eritromicina, doxicilina, gentamicina, sulfasotrim, penicilina, ampicilina y enrofloxacin. Se identificaron tres especies de bacterias Gram negativas, la más común fue *Enterobacter aerogenes*; seguido de *Shigella* spp. y *Edwardsiella* spp. El 85% muestran que las bacterias aisladas fueron altamente sensibles a la gentamicina, seguida de la enrofloxacin y estreptomicina, moderadamente sensible a doxicilina y el sulfasotrim y poco sensible a la ampicilina, cefalexina, penicilina y eritromicina (42).

En el Perú no se han encontrado estudios realizados sobre sensibilidad antimicrobiana a bacterias asociadas a enfermedad respiratoria en reptiles. Sin embargo, existen estudios referentes sobre el tema a partir de hisopados cloacales en el caimán blanco (*Caimán crocodilus*) de vida libre en el departamento de Madre de Dios (43). y en el lagarto caimán (*Dracaena guianensis*) mantenido en cautiverio en la ciudad de Lima (44).

Carlos y colaboradores (2016) realizaron un estudio para determinar las enterobacterias y su resistencia antimicrobiana en el caimán blanco (*Caimán crocodilus*) de vida libre en el río de Madre de Dios, provincia de Tambopata (Perú). Se capturaron 30 individuos de ambos sexos y en diferentes estados de desarrollo. Se tomó una muestra cloacal con la ayuda de un hisopo estéril que se colocó en medio de transporte Cary Blair, la identificación bacteriana se llevó a cabo utilizando pruebas bioquímicas. La resistencia antimicrobiana se evaluó con la técnica Kirby Bauer, empleando los discos de ciprofloxacina, cefoxitina, gentamicina, ampicilina, ácido nalidixico, aztreonam y cloranfenicol. En el resultado la bacteria más recurrente fue

*Klebsiella spp.* (40%) y respecto a la sensibilidad antimicrobiana se determinó que el 80,0% mostro resistencia al cloranfenicol, en cambio para gentamicina no se observó. *Klebsiella spp.* fue la bacteria que mostro mayor resistencia (69,39%) y la de menor fue *E. aerogenes* (8,16%) (43).

Ramírez (2017) tuvo como objetivo evaluar la resistencia de las cepas presentes en enterobacterias identificadas en muestras cloacales del lagarto caimán (*Dracaena guianensis*). Se colectaron 57 muestras de dichos individuo criados en cautiverio en un zocriadero privado, ubicado en la provincia y departamento de Lima. Identificando a *Shigella sp.* (15,32%), *Enterobacter cloacae* (12,09%), *Enterobacter aerogenes* (11,29%) y *Pseudomona aeruginosa*. Para ello se utilizó la técnica de Kirby Bauer, la cual estableció más del 90% de sensibilidad a ciprofloxacina, gentamicina, enrofloxacina y nitrofurantoina, más del 80% de sensibilidad a ceftriaxona, neomicina, cefuroxima y estreptomina, 62% de resistencia a tetraciclina y 73% de resistencia a ácido nalidixico (44).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Espacio y tiempo

El estudio se realizó en el Zoológico “Parque Zonal Huáscar”, ubicado en la av. 200 millas, tercer sector distrito de Villa el Salvador, ciudad de Lima, es considerado el segundo parque zonal más grande de la capital. El parque comprende una extensión de 310, 900 m<sup>2</sup> y al ser uno de los más grandes de Lima, se encuentra habilitado con áreas culturales, sectores como un mini estadio deportivo y áreas recreativas como una amplia laguna y mini-zoológico (Anexo 4). El clima es subtropical húmedo (siempre por encima del 87%) fresco y desértico a la vez la temperatura media anual es de 19°C, el parque zonal Huáscar tiene una latitud de -12.2314 y una longitud -769279, así como, una altitud de 1256 msnm.

La toma de muestra se llevó a cabo durante el mes de diciembre del 2018. El análisis se realizó en un laboratorio particular, ubicado en la Ciudad de Lima.

#### 3.2 Población y muestra

La población de la presente investigación estuvo conformada por 50 individuos de Tortugas Motelo de patas amarillas (*Chelonoidis denticulata*) albergadas en el zoológico “Parque Zonal Huáscar”. Se utilizó un muestreo no probabilístico por conveniencia dado a que se deseó identificar la sensibilidad antimicrobiana de las bacterias presentes en secreciones nasales de quelonios que presentaron signos clínicos compatibles a enfermedades respiratorias.

Además, se tomó en cuenta que esta especie está categorizada en situación vulnerable (Vu), según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (8) y por medio de antecedentes internacionales y nacionales que muestran investigaciones en reptiles con una población menor o similar a esta. Se identificaron 26 individuos adultos con signos clínicos compatibles a enfermedades respiratorias 16 hembras y 10 machos. Los individuos provenían de tráfico ilegal y habían sido albergadas en el zoológico desde hace 6 meses como mínimo.

Las tortugas se encontraban albergadas en un recinto externo de un área de 20m aproximadamente y cercada con barandas de metal, con sustrato natural de tierra. El ambiente contaba con una poza y dormitorio (1,2 m x 0.6 m) de madera y no contaban con una fuente de calor artificial (Anexo 5).

### **3.3 Diseño de investigación**

El estudio es de tipo descriptiva no experimental, 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, posterior a ello se realizó el hisopado nasal, el cual se colocó en un medio de transporte. Las muestras se analizaron en un laboratorio privado en el que se llevó a cabo el antibiograma según las bacterias aisladas. Posteriormente se analizaron los resultados y se obtuvieron las conclusiones pertinentes.

### **3.4 Equipo y procedimiento**

#### **3.4.1 Equipos**

Los materiales y equipos para esta investigación son:

- a. Sujeto de estudio
  - Tortuga Motelo de patas amarillas (*Chelonoides denticulata*)

b. Unidad de análisis

- Muestra de la cavidad nasal

c. Materiales y equipos para la toma de muestras

- Guantes de nitrilo
- Mascarilla
- Medio de transporte Cary Blair
- Ficha de historia clínica
- Caja de polietileno expandido
- Gel refrigerante
- Microaplicadores estéril (Hisopos odontológicos) / marca Tisen
- Cámara digital

d. Servicios

- Laboratorio de microbiología
- Biblioteca
- Internet
- Impresiones
  
- Fotocopias
- Transporte terrestre

e. Materiales de escritorio

- Cuaderno de apuntes
- Lapicero, resaltadores
- USB
- Laptop

f. Capital humano

- Investigador
- Asesores
- Ayudantes del zoológico

### 3.4.2 Procedimiento

#### a) Aprobación y permisos

- El estudio se llevó a cabo después de la aprobación y autorización del proyecto de tesis por parte de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Alas Peruanas (N° 258-2018-FCA-UAP). (Anexo 6).
- Además, se contó con la autorización pertinente del Parque Zonal Huáscar (Anexo 7).
- Se contó con el permiso del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre (SERFOR) otorgado mediante la Resolución General N° 032-SERFOR/DGGSPFFS (Anexo 8).

#### b) Examen clínico general

- Inicialmente se realizó una inspección general a los 50 individuos de la población de tortugas Motelo de patas amarillas, para obtener una serie de datos objetivos o signos clínicos que están relacionados con problema respiratorio (Anexo 9).
- La exploración física se llevó a cabo para conocer la condición general de salud de los quelonios y registrarlos en la historia o ficha clínica (Anexo 10). con la cual se confirmará el diagnóstico médico de la enfermedad (45).

#### c) Identificación y sujeción de los animales

- Luego se identificó a los individuos con sintomatología respiratoria los cuales fueron incluidos en el estudio.
- Se realizó la sujeción de los animales, colocando las manos a ambos extremos del caparazón para inmovilizarlos y evitar así el estrés (Anexo 11).
- Una vez identificados los individuos se procedió a realizar la toma de muestra para ello se contó con la ayuda de una segunda persona con la finalidad de tener acceso a la cabeza sujetándola correctamente para evitar que la retraiga (Anexo 12).

#### d) Toma de muestra

- Para la recolección de muestra se utilizó micro aplicadores (hisopo de algodón) de uso odontológico ya que el grosor y punta eran ideales para obtener la secreción nasal de cada orificio nasal de los quelonios (Anexo 13).
- Se introdujo gentilmente en las fosas nasales y realizando movimientos circulares se obtuvo la secreción de cada orificio nasal.
- Luego de la toma de muestra se identificaron con el número de chip que conto cada individuo (Anexo 14).
- Los micro aplicadores fueron envueltos en papel craf y esterilizados en un autoclave en 30 minutos a 121°C. las muestras fueron insertadas inmediatamente en tubos con medio de transporte Cary Blair, se rotulo según el código asignado a cada individuo (Anexo 15).

#### e) Transporte de las muestras

- Las muestras fueron conservadas y transportadas para su envío en una caja de polietileno expandido con refrigerantes a temperatura entre 4 a 8°C su transporte fue en un laboratorio particular especializado de la ciudad de Lima con la finalidad de evitar cualquier derrame o rotura.

#### f) Antibiograma

- Esta prueba se llevó a cabo en un laboratorio especializado de microbiología
- se utilizó la técnica de difusión (Kirby-Bauer) (46).
- Se tomaron las colonias aisladas y se inoculo en una suspensión directa de solución salina o caldo.
- Se agito vigorosamente el inculo hasta obtener una solución homogénea de aproximadamente  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml ajustadas a la turbidez del estándar 0.5 de la escala de McFarland.
- Se inoculo en 3 o 4 direcciones toda la superficie de la placa con el agar Mueller Hilton (MH), girando suavemente dicha placa en ángulos de 90°, para después agregar los discos antibióticos seleccionados: Enrofloxacina, Ciprofloxacina, Oxiteraciclina, Gentamicina, Amikacina, Ceftriaxona y Ampicilina (Anexo 17).

- Se instaló los multidiscos sobre la superficie del agar y con la ayuda de una pinza estéril se presionó suavemente para asegurar cada disco.
- Se distribuyó los discos uniformemente, de tal manera que estén a una distancia mínima de 24mm desde el centro de un disco a otro (el diámetro de los discos según las normas de la organización mundial de la salud (OMS) debe ser de 6 mm). Teniendo en cuenta que un disco no debe ser movido una vez que tomo contacto con la superficie del agar ya que algunos antibióticos se dispersan rápidamente.
- Las placas de Mueller-Hilton se incubaron en una estufa durante 12- 24 horas a 37°C.
- Se midieron los diámetros de los halos cuyos resultados fueron interpretados siguiendo las indicaciones de la normativa del CLSI lo que permitió catalogar a cada uno las bacterias aisladas como sensibles (S), sensibilidad intermedia (I) o resistencia (R) (47). (Anexo 18).
- Finalmente se evaluó la sensibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas frente a los antibióticos previamente seleccionados para el estudio: ampicilina (AMP), amikacina (AMK), ciprofloxacina (CIP), enrofloxacina (EN), gentamicina (GEN), oxitetraciclina (OXI), ceftriaxona (CTX).

### 3.5 Diseño estadístico

Se realizó el análisis porcentual de las colonias sensibles a cada antibiótico de cada especie de las bacterias aisladas en las tortugas Motelo de patas amarillas del zoológico Parque Zonal Huáscar. Utilizando la siguiente formula

$$Frecuencia = \frac{\text{Numero de colonias positivos}}{\text{Numero total de colonias}}$$

#### IV. RESULTADOS

De los 45 aislamientos bacterianos se identificaron las colonias sensibles a cada antibiótico, así como el porcentaje total de sensibilidad por antibiótico, hallando que la mayor sensibilidad se observó para la amikacina (100,00%), así mismo para la gentamicina (97.7%) y la de menor fue ampicilina (15,56%) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Sensibilidad antimicrobiana según las 45 colonias aisladas de la muestra de secreción nasal a individuos con enfermedad respiratoria frente a los antibióticos seleccionados (n=26).

<b>Antibióticos</b>	<b>Total de colonias</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Amikacina	45	100,00
Gentamicina	44	97,7
Ciprofloxacina	37	82,2
Ceftriaxona	36	80,00
Enrofloxacin	15	33,33
Oxitetraciclina	13	28,88
Ampicilina	7	15,56

En el siguiente cuadro se puede observar con mayor detalle a las bacterias asociadas a enfermedad respiratoria y su sensibilidad antimicrobiana, siendo la bacteria *Pseudomona spp* la de mayor porcentaje de sensibilidad frente a todos los antibióticos excepto la ampicilina donde no mostro sensibilidad alguna (Cuadro 1).

Cuadro 2. Sensibilidad antimicrobiana según las bacterias asociadas a enfermedad respiratoria en la tortuga motelo de patas amarillas (*C. denticulata*) (n=26).

Bacterias	Total de colonias	AMP	AMK	CIP	EN	GEN	OXI	CEF
<i>Aeromona sp.</i>	4	2	4	4	3	4	1	4
<i>Citrobacter freundii</i>	3	0	3	2	1	3	0	3
<i>Citrobacter koseri</i>	4	1	4	4	1	4	2	4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	0	3	3	3	3	0	2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	7	0	7	6	1	6	2	6
<i>Moraxella sp.</i>	3	1	3	3	1	3	2	2
<i>Pasteurella sp.</i>	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>Proteus vulgaris</i>	5	0	5	2	0	5	0	3
<i>Pseudomona sp.</i>	12	0	12	9	2	12	3	9
<i>Serratia sp.</i>	2	1	2	2	1	2	1	1
<b>Total</b>	45	7	45	37	15	44	13	36
<b>Frecuencia (%)</b>		<b>15,56</b>	<b>100,00</b>	<b>82,22</b>	<b>33,33</b>	<b>97,78</b>	<b>28,89</b>	<b>80,00</b>

AMP = Ampicilina, AMK = Amikacina, CIP = Ciprofloxacina, EN = Enrofloxacin, GEN = Gentamicina, OXI = Oxitetraciclina, CTX = Ceftriaxona.

## V. DISCUSIÓN

El estudio logro determinar la sensibilidad antimicrobiana de las bacterias aisladas en la tortuga Motelo de patas amarillas (*C. denticulata*) con enfermedad respiratoria. Sin embargo no se ha encontrado un estudio similar en reptiles, habiendo reportes sobre la sensibilidad o resistencia antimicrobiana a partir de individuos clínicamente sanos y con bacterias que formarían parte de su microbiota.

Para la ampicilina se halló que el 15,56% (10/45) de los aislamientos bacterianos fueron sensibles, por el contrario, las colonias de *C. freudii*, *E. aerogenes*, *K. oxytaca*, *P. vulgaris* y *Pseudomona sp.* fueron resistentes. En otros estudios con individuos clínicamente sanos se determinó que este antibiótico presenta alto porcentaje de resistencia, como el realizado en la tortuga del Bolsón (*G. flavomarginatus*) donde se determinó que ninguna de las 8 bacterias Gram negativas aisladas (incluyendo *C. freudii*, *K. oxytaca* y *Pseudomona spp.*) fueron sensibles (13). En el caimán blanco (*C. crocodillus*) se determinó que el 42,86% (5/35) de bacterias aisladas por hisopado cloacal fueron resistentes a este antibiótico (43).

Es importante considerar que la sensibilidad de la ampicilina encontrada en *C. crocodillus* podría deberse a que se trataban de individuos de vida libre, que no habrían estado expuesto a antibióticos, a diferencia de *G. flavomarginatus* y los individuos en el presente estudio que eran mantenidos en cautiverio donde se daría la resistencia adquirida. Asimismo, hay que considerar que se observa una resistencia natural de *P. aeruginosa*, *Klesiella spp.* y *Proteus sp.* a la ampicilina (26). Estas bacterias fueron aisladas en los estudios mencionados. En general, la resistencia se relaciona por

disminución de la permeabilidad, modificación de la diana e inactivación del antimicrobiano, ocasionando de esta manera la resistencia a bacterias Gram negativas y Gram positivas como: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y bacterias entericas (37).

Así mismo, todas las colonias de *Pseudomona sp.* aisladas en las tortugas del presente estudio fueron resistentes a la ampicilina. Concordante a lo referido por Martínez (1994), que las cepas de *Pseudomonas spp.* en reptiles presentan resistencia a la ampicilina, por lo cual ante infecciones se puede optar por otros antibióticos como las quinolonas (48).

En el presente estudio todas las colonias aisladas fueron sensibles (100%) a la amikacina, similar a lo descrito en la tortuga del Bolsón (*G. flavomarginatus*) donde se halló 100% de sensibilidad (13). Este antibiótico bactericida penetra la bacteria y se une a las subunidades 30S y 50S de los ribosomas, ocasionando de esta manera una mal interpretación de t-RNA, dejando que la bacteria no tenga la capacidad para sintetizar proteínas vitales para su crecimiento (26). El mecanismo de resistencia de la amikacina se da mediante la disminución intracelular del aminoglicosido, ocasionada por alteraciones a nivel de la membrana externa que dificultan la entrada de la droga a la bacteria (26). Es utilizado en infecciones graves ocasionadas por bacterias como *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Acinetobacter*. Por lo tanto, en base a los resultados sería un antibiótico recomendado para el tratamiento enfermedades respiratorias en quelonios; sin embargo, hay que considerar su ototoxicidad y nefrotoxicidad (26).

Para ciprofloxacina se consideró que el 82,22% de las colonias bacterianas fueron sensibles, solo algunas colonias de *C. freundii*, *P. vulgaris* y *Pasteurella sp.* fueron resistentes. Por lo contrario, descrito en el caimán blanco (*C. crocodillus*) donde se determinó que el 22,86% (5/35) de las colonias aisladas fueron resistentes a este antibiótico (43). Este fármaco inhibe la síntesis de ADN protéica y la inducción de la respuesta SOS y de autolisinas (22). Debido a esto es utilizada para el tratamiento de infecciones de las vías urinarias, tracto respiratorio, piel, huesos y articulaciones. La resistencia encontrada se debería a la disminución de la permeabilidad de la membrana y la expulsión del antimicrobiano mediante bombas de expulsión activa mediado por un gen denominado *qepA* (27).

La sensibilidad determinada para la enrofloxacin fue de 33,33% (10/45), solo una colonia de *Proteus vulgaris* fue resistente. Este antibiótico de amplio está relacionado en el proceso de replicación, recombinación y reparación del ADN de la bacteria (21, 22).

En quelonios la enrofloxacin es recomendada en neumonías ocasionadas por *Acinetobacter calcoaceticus* y rinitis por *Pasteurella testudinis* (49). Sin embargo, en el presente estudio algunas de las colonias de *Pasteurella sp.* fueron resistentes. La resistencia adquirida de las fluorquinolonas se da por la alteración de las dianas, principalmente por alteraciones cromosómicas en la región QRDR (Región Determinante de Resistencia a Quinolonas) del gen *gyrA* (23). A pesar de ser recomendada por algunos autores, según los datos del presente estudio este antibiótico puede ser administrado por distintas vías y a intervalos prolongados debido a la baja incidencia de efectos adversos. Este grupo de antimicrobianos representa una muy buena herramienta en la terapéutica de infecciones bacterianas en reptiles.

Para la gentamicina se estableció que el 97,78% de las colonias bacterianas fueron sensibles, Similar a lo descrito en la tortuga del Bolsón (*G. flavomarginatus*) y el caimán blanco (*C. crocodillus*) donde todas las colonias fueron sensibles (100%) (13) y se halló 0% de resistencia (40). Respectivamente. Este antibiótico produce la inhibición de la síntesis proteica y muerte del microorganismo. Según lo hallado, podría ser un antibiótico recomendado para problemas respiratorios en quelonios; sin embargo, se ha reportado cierto grado de toxicidad (especialmente en serpientes). Siendo necesario mantener una adecuada hidratación y puede ser utilizado adicionando cefalosporinas (26). La resistencia de este aminoglucósido se da mediante la disminución de dicho fármaco ocasionada por alteraciones de la membrana externa que dificulta la entrada de la sustancia a la bacteria (26).

Para la oxitetraciclina se halló que el 28,89% (13/45) de las colonias bacterianas fueron sensibles, solo algunas colonias de *C. freundii*, *E. aerogenes*, *P. vulgaris* y *Serratia. sp* fueron resistentes a este antibiótico de amplio espectro. Por el contrario, en otros estudios como el del Lagarto caimán (*Dracaena guianensis*) mantenido en cautiverio se determinó el 62% de resistencia a tetraciclinas. En reptiles es recomendado contra infecciones por *Staphyococcus* y *Klebsiella*; sin embargo, en el presente estudio solo 2 de 7 colonias de *Klebsiella oxytaca* fueron sensibles. Para bacterias Gram negativas el mecanismo de resistencia es el de sistema de bomba de reflujo que son proteínas transportadoras de membranas. Los genes pueden estar localizados en el cromosoma bacteriano o elementos genéticos como plásmidos (29). Debido a esto, la oxitetraciclina no sería un antibiótico de elección para el tratamiento de enfermedades respiratorias en quelonios.

Para la ceftriaxona se consideró que el 80,00% (10/45) de las bacterias aisladas fueron sensibles, solo algunas colonias de *Enterobacter aerogenes*, *Moraxella sp*, *Pasteurella*

*sp* y *Serratia* fueron resistentes. Similar a lo descrito para la tortuga de Bolson (*G. flavomarginatus*) donde se determinó que el 75,0% (8/18) fueron sensible (13). Este antibiótico actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana y ocasiona la destrucción de esta (35). Se utiliza en el tratamiento contra *P. aeruginosa*, infecciones del tracto respiratorio, infecciones de piel y tejidos blandos, entre otros (26). La resistencia de este fármaco se da por las betalactamasas producidas por microorganismos (sobre todo las denominadas de amplio espectro) estas enzimas son codificadas por plásmidos e hidrolizan el anillo betalactámico haciéndolo inactivo, impidiendo de esta manera su penetración a través de la pared celular bacteriana (26).

Los discos seleccionados de sensibilidad antibiótica en el estudio se basaron en investigaciones previas y en relación con la frecuencia de bacterias Gram negativas aisladas en afecciones respiratorias en reptiles, por lo cual se recomienda ampliar el estudio frente a la sensibilidad antimicrobiana de bacterias Gram positivas.

Por último, hay que considerar que el uso extensivo o un uso inadecuado de algunos antibióticos es la causa de la aparición de la resistencia. No existen estudios sobre la similitud de las bacterias encontradas en reptiles con los humanos; sin embargo, en el presente estudio varias colonias de *Pasteurella sp.* y *Klebsiella oxytoca* fueron resistentes y en ocasiones estas bacterias pueden ocasionar enfermedades gastroentéricas y respiratorias en humanos. Se considera que los animales silvestres son fuente de enfermedades emergentes, incluyendo la resistencia antimicrobiana (50). Habrá un potencial transmisión de patógenos bacterianos multirresistentes de los animales de zoológico a los humanos (50). Por lo cual es necesario la concientización del personal de los zoológicos y el público visitante al estar en contacto con animales silvestre como los reptiles.

## V. CONCLUSIONES

- De las 46 colonias bacterianas asociadas a enfermedad respiratoria en la tortuga Motelo de patas amarillas (*Chelonoidis denticulata*), el mayor grado de sensibilidad antibiótica se determinó para la amikacina (100,00%), seguido de gentamicina (97,78%), ciprofloxacina (82,22%), ceftriaxona (80,00%), enrofloxacin (33,33%), oxitetraciclina (28,89%) y ampicilina (15,56%).

## VI. RECOMENDACIONES

- Se puede indicar el uso de Amikacina debido a su alta efectividad sobre las bacterias Gram negativas encontradas en quelonios con enfermedad respiratoria.
- La Amikacina y Gentamicina son antibióticos de elección para enfermedad respiratoria en tortugas, pero se debe usar con cautela debido a sus posibles efectos secundarios.
- Realizar estudio enfocados a determinar la similitud filogenética existente entre las bacterias aisladas de humanos y los reptiles, así como, su predisposición a compartir resistencia a los antibióticos.
- Continuar con futuras investigaciones con la finalidad de mejorar la terapéutica en animales silvestres y el uso de adecuado de fármacos.

## X. BIBLIOGRAFIA

- 1 Pujol J. Las Tortugas terrestres de zonas Áridas de la República Argentina. Asociación Ciencia Hoy [Internet]. 1998 [Citado mayo-junio 1998]; 8 (46).
- 2 Rodríguez H. Manual de diagnóstico y tratamiento de neumonía en saurios y quelonios mantenidos como mascotas no convencionales. Universidad de la Salle Bogotá-Colombia; 2015.
- 3 Serfor. Guía de reconocimiento. Herramienta para el control del tráfico ilegal de tortugas terrestres y de agua dulce del Perú; p. 4
- 4 Mendoza Flores N. Análisis antimicrobiano de extractos y nano partículas de oro derivadas de plantas para el tratamiento de neumonía en tortugas (*Trachemys* y *Grapteys*). [Tesis para obtener el título]. México: Instituto Politécnico Nacional unidad profesional interdisciplinaria de biotecnología. Junio; 2014.
- 5 Cabrera M. Valores hematológicos de la tortuga Motelo (*Goechelone denticulata*), mantenidos en cautiverio en la ciudad de Iquitos-Perú. [Tesis para obtener el título]. Perú: Universidad Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina Veterinaria; 2008.
- 6 Identificación y Cuidados iniciales de animales silvestres decomisados o hallados en abandono. Lima-Perú; 2016. p.115.
- 7 Meredith A y Redrobe S. Manual de animales exóticos. 4a ed; 2012. p.297.
- 8 Cites. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres Apéndices I, II and III. United Nations Environment Programme. 2013.46 pp
- 9 Martínez A, Soler J. Enfermedades infecciosas y parasitarias en tortugas, Consultavet. Consulta de difusión veterinaria; 2008. ISSUE 150, P 43-54.
- 10 Jay D, Berney M, James L. A review of Mycoplasmosis infections in tortoises and options for treatment, Association of reptilian and Amphibian veterinarians. USA; 1998.
- 11 Jimenez J. Manual clínico de animales exóticos, multimedia Ed veterinaria. Barcelona; 2009.

- 12 Muro J, Ramis A, Velarde R, Pastor J, Lavin S, Rinitis crónica en tortugas terrestres mediterráneas. Rev Clínica veterinaria de pequeños animales. 1998. 18(2):70-84.
- 13 García de la Peña C, Quesada C, Martínez J, Gonzales A, Castro R. Sensibilidad a antibióticos en bacterias aerobias de la tortuga del Bolsón *Gopherus flavomarginatus*. en cautiverio en Durango México. México; 2016.
- 14 Ruiz L. *Pseudomonas aeruginosa*: apartación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos, Barcelona: sn, 2007.
- 15 Valdez A. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política microbiana. Haban cienc med [Internet]. 2017 [citado may-jun 2017]; 16(3). Disponible en: [cmrrhaban@infomed.sld.cu](mailto:cmrrhaban@infomed.sld.cu)
- 16 Medina G, Morales C y Navarrete Z. Resistencia antibiótica de enterobacterias aisladas de monos (*Ateles*, *Callicebus* y *Lagothrix*) en semicautiverio en un centro de rescate, Perú. Inv Vet Peru [Internet]. 2017 [citado 30 noviembre 2016]; 28(2): 418-425. Disponible en: [sieverm@hotmail.com](mailto:sieverm@hotmail.com)
- 17 Taroco R, Seija V, Vignoli R. Metodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. P. 663-665.
- 18 Marco L. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana metodología de laboratorio. Rev. Med. Jan.1999. 34.
- 19 Brenner D, Lewbart G, Stebbins M, Herman D. Health survey of wild and captive bog turtles (*Clemmys muhlenbergii*) in North Carolina and Virginia; J. zoo, wildll. Med. 2002. 33:311-316.
- 20 Sacsquispe R, Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco de Difusión. Instituto nacional de salud. Lima-Perú; 2002. P14-24.
- 21 Lees P, Shojaee, Aliabadi F. Antimicrobianos que inhiben la función de los ácidos nucleicos, en: Farmacología y terapéutica veterinaria. L. M. Botana, F. Lamdomiyt. Martin-Jimenez (Eds.) McGraw Hill-interamericana, España. 2003. pp. 484-492.
- 22 Medina A. Resistencia antimicrobiana en aislados de *Escherichia coli* de conejos tratados por via oral en diferentes pautas de doxiciclina. Universidad computense de Madrid Facultad de Medicina, Madrid; mayo, 2011.

- 23 Strahilevitz J, Jacoby A, Hooper DC et al. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin Microbiol Rev.* 2009. 22: 664-89.
- 24 Webber M, Piddock LJ. Quinolonas resistance in *Escherichia coli*. *Vet Res.* 2001. 32, 275-284.
- 25 Gobernado M, Salavert M, Santos M, Canton E, Pastor A, Roma E. Quinolonas, En: *Antimicrobianos en Medicina*. J.E. García Sánchez, R. Lopezyl. Prieto (Eds.) Prous Science, Sociedad Española de Quimioterapia y Smithkline Beecham; Barcelona. 1999, spp. 383-416.
- 26 Giguere S, Prescott J, Dowling P. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Use of antimicrobial drugs in reptils. Chapter 26, pag. 191-194.
- 27 Marder D. *Reptile Medicine and Surgery*. W. B. Saunders Company. 1996. pp: 512.
- 28 Perichon B, Courvalin P, Galimand M. Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16s rRNA and to hydrophilic fluorquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007.51:2464-2469.
- 29 Goldman R.A, Hasan T, Hall C.C, Strycharz W.A, Cooperman B.S. Photoincorporation of tetracycline into *Escherichia coli* ribosomes. Identification of the major proteins photolabeled by native tetracycline and tetracycline photoproducts and implications for the inhibitory action of tetracycline on protein synthesis. *Biochemistry.* 1983. 22:359-368.
- 30 Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2001. 65: 232-260; second page, table of contents.
- 31 Koo HJ, Woo GJ. Distribution and transferability of tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli* isolated from meat and meat products. *Int J Food Microbiol.* 2011. 145:407-413.
- 32 Canton R, Valdezate S, Mir N. 1999. Resistencia a los antimicrobianos, En: *Antimicrobianos en medicina*. J. E. García Sanchez, R. Lopezyl. Prieto (Eds.) Sociedad Española de Quimioterapia Prous Science, Barcelona, pp. 41-67.

- 33 Shakil S, Khan R, Zarrilli R, Khan A.U. Aminoglycosides versus bacteria--a description of the action, resistance mechanism, and nosocomial battleground. *J Biomed Sci* .2008.15: 5-14.
- 34 Durante M, Grammatikos A., Utili R., Falagas, M. Do we still need the aminoglycosides? *Int J Antimicrob Agents*. 2009.33: 201-205.
- 35 Mingeot L, Glupczynski Y, Tulkens P. Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrob Agents Chemother*; 1999.43: 727-737.
- 36 Garcia J, Fresnadillo M, Arce J, García E. Antibióticos betalactámicos, En: *Antimicrobianos en medicina*. J. E. García, R. LopezyJ. Prieto (Eds.) Sociedad Española de Quimioterapia Prouss Science, Barcelona, 1999. pp. 213-226.
- 37 Calvo J, Martinez L [Antimicrobial mechanisms of action]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009.27:44-52.
- 38 McDermott P, Walker D, White G. Antimicrobials: modes of action and mechanisms of resistance. *Int J Toxicol* 2003.22: 135-143.
- 39 Fleming A. On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their Use in the Isolation of B. influenza. From the laboratories of the inoculation department, ST Marys Hospital London-Received for publication. 1929 May; 10.
- 40 Castillo Silva R. "Aislamiento e Identificación de Pseudomonas spp. Y patrón de resistencia a antimicrobianos en reptiles en cautiverio". [Tesis para obtener el título]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador. Quito, agosto; 2015.
- 41 Torrejón B. Detección de genes de resistencia antimicrobiana en cepas de Salmonella spp. Aisladas de reptiles en cautiverio región metropolitana Chile. [Tesis para optar el título]. Santiago, Chile; 2016.
- 42 Da Silva sobrinho F, Conceicao da Maria A, Gouveia V, Costa M, Faria. D, Milanelo L, et al. Isolamento e determinacao de sensibilidade e resistencia a antimicrobianos de cepas bacterianas presentes na cloaca de Trachemys scripta elegans (wied 1839) criadas em cativerio em Petronila, PE. *Mar*. 2017; 37(3): 2-16
- 43 Carlos N, Nuñez Y, Gonzales H, Capuñay C. Enterobacterias y su resistencia antimicrobiana en el caimán blanco (*Caiman crocodilus*) de vida libre en el rio

- Madre de Dios, Tambopata- Perú. Rev Latino Americana de Recursos Naturales, 2016; 12(2): 53-59.
- 44 Ojeda J. Determinación de la resistencia de entero bacterias aisladas en cloaca de lagartos caimán (*Dracaena guianensis*) mantenidas en cautiverio en un zoológico de Lima. [Tesis para obtener el título]. Perú: Universidad Científica del Sur; 2017.
  - 45 Brieva C y Sanchez A. Fundamentos sobre rehabilitación en fauna silvestre. Unidad de rescate y rehabilitación de animales silvestres (URRAS). Colombia 2000. p. 115.
  - 46 Ministerio De Salud Del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión, Lima. 2002. N°-30
  - 47 Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for Antimicrobial susceptibility testing; Twenty-third informational supplement. January; 2013.
  - 48 Martínez A, Marco E. Mateu. Septicemia Por *Pseudomonas Fluorescens* En Una Iguana Coman. 1994. Vol.14 N° 1.
  - 49 Jacobson E. Antibiotic Therapy for Reptiles. University of Florida, Chapter January; 2000. p. 538.
  - 50 Julio V, Salim M, Santiago M. Bacterias patógenas con alta resistencia a antibióticos: estudio sobre reservorios bacterianos en animales cautivo en el zoológico de Barranquilla. Rev infectio. 2010.14 (1):6-19.

**ANEXOS**

## ANEXO 1

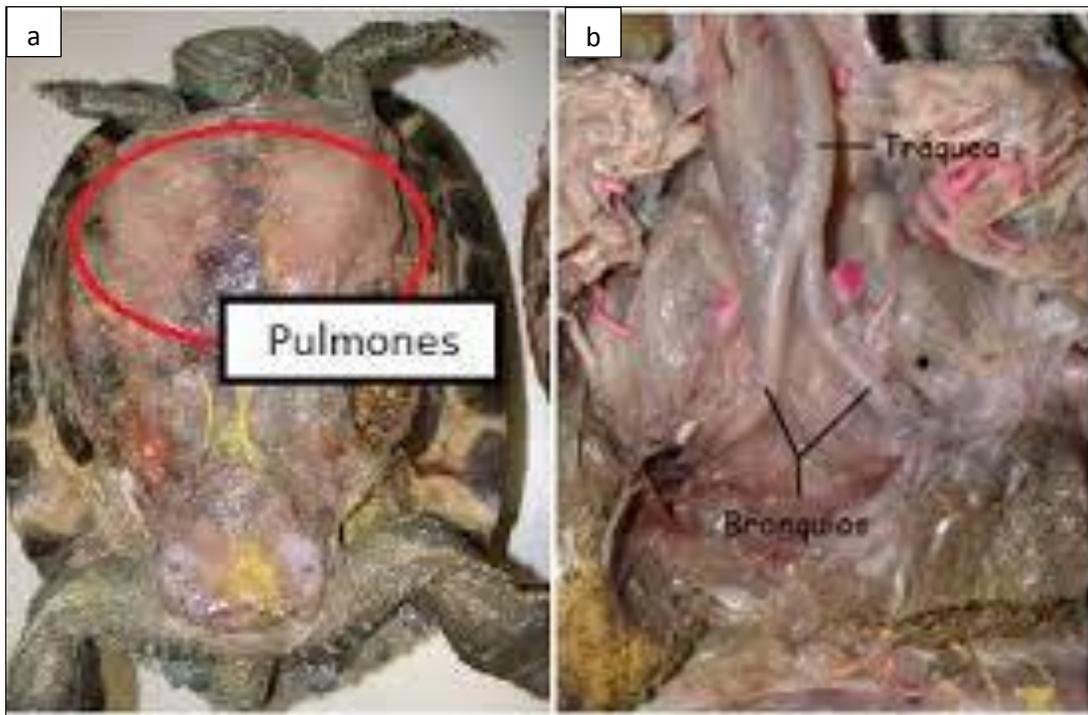


Figura 1: Anatomía y fisiología respiratoria en quelonios. a) Pulmones con ligera inflamación. b) Bronquios dilatados

Fuente: Rodríguez, 2015 (2).

## ANEXO 2

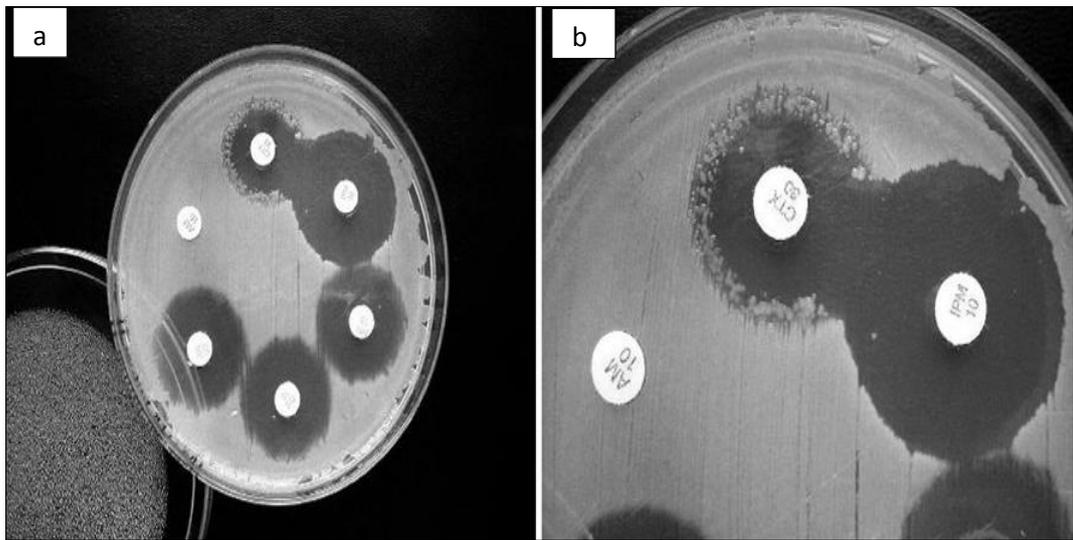


Figura 2: a) Sensidiscos y b) penicilindros usados en las pruebas de sensibilidad por difusión, los sensidiscos están impregnados de antibióticos de interés o pueden ser impregnados del antibiótico de estudio. Los penicilindros son recipientes que contendrán al antibiótico.

Fuente: Flores, 2014 (4).

### ANEXO 3

Cuadro 1: Valores críticos de las concentraciones bajas (c) y altas (C) y de sus diámetros correspondientes (d, D) permitiendo la categorización.

<b>Categorías</b>	<b>Concentración inhibitoria mínima (mg/L)</b>	<b>Diametro del halo de inhibición (mm)</b>
S	$CIM \leq c$	$DHI \geq D$
R	$CIM > C$	$DHI < d$
I	$c < CIM \leq C$	$d \leq DHI < D$

Fuente: Sacsquispe R, Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco de Difusión. Instituto nacional de salud. Lima-Perú; 2002. P14-24. (18).

## ANEXO 4



Figura 4: a) Entrada del zoológico b) Recinto de las tortugas(*C denticulata*)

Fuente: Elaboración propia, 2019.

**ANEXO 5**

Figura 5: Población de tortugas Motelo de patas amarillas (*C. denticulata*) con enfermedad respiratoria

Fuente: Elaboración propia, 2019

## ANEXO 6

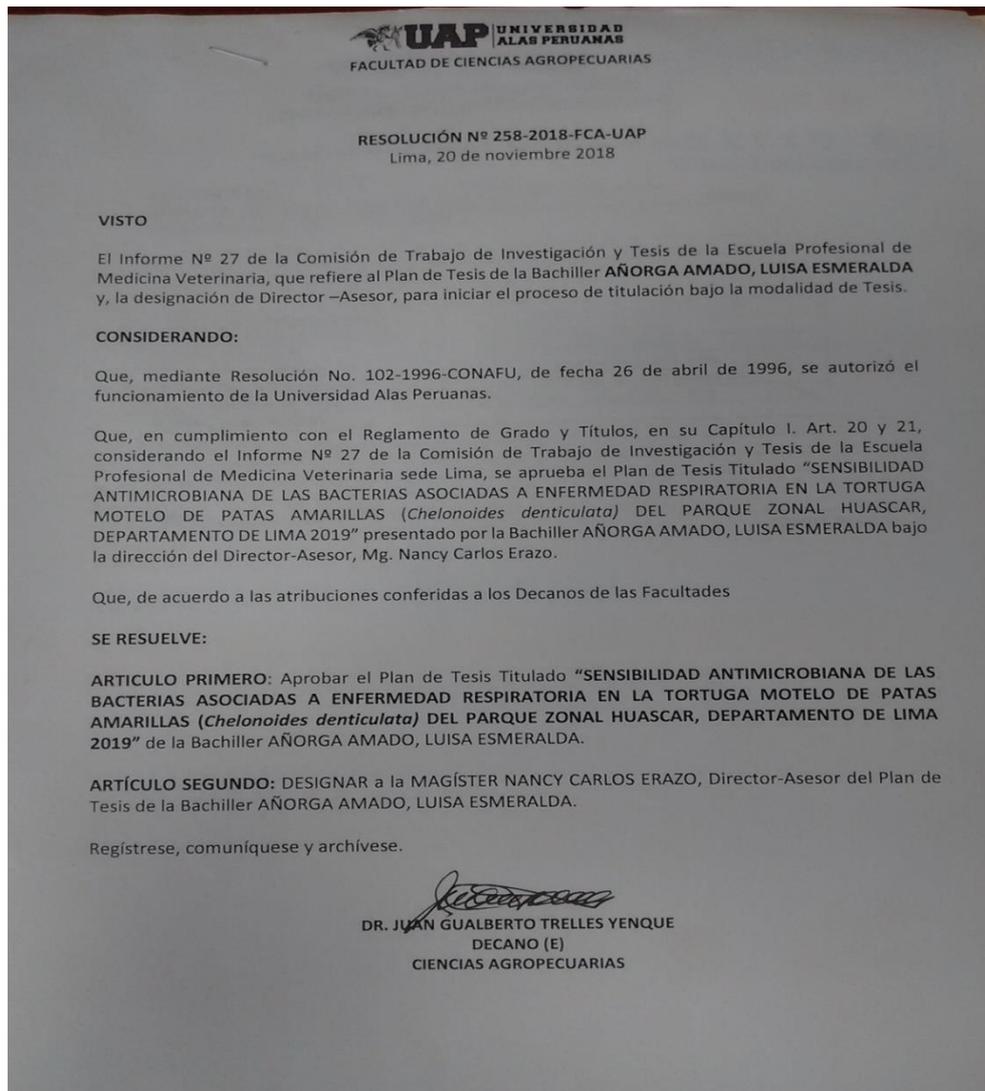


Figura 6: Autorización del proyecto de tesis por parte de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Alas Peruanas.

Fuente: Elaboración propia, 2019.

## ANEXO 7

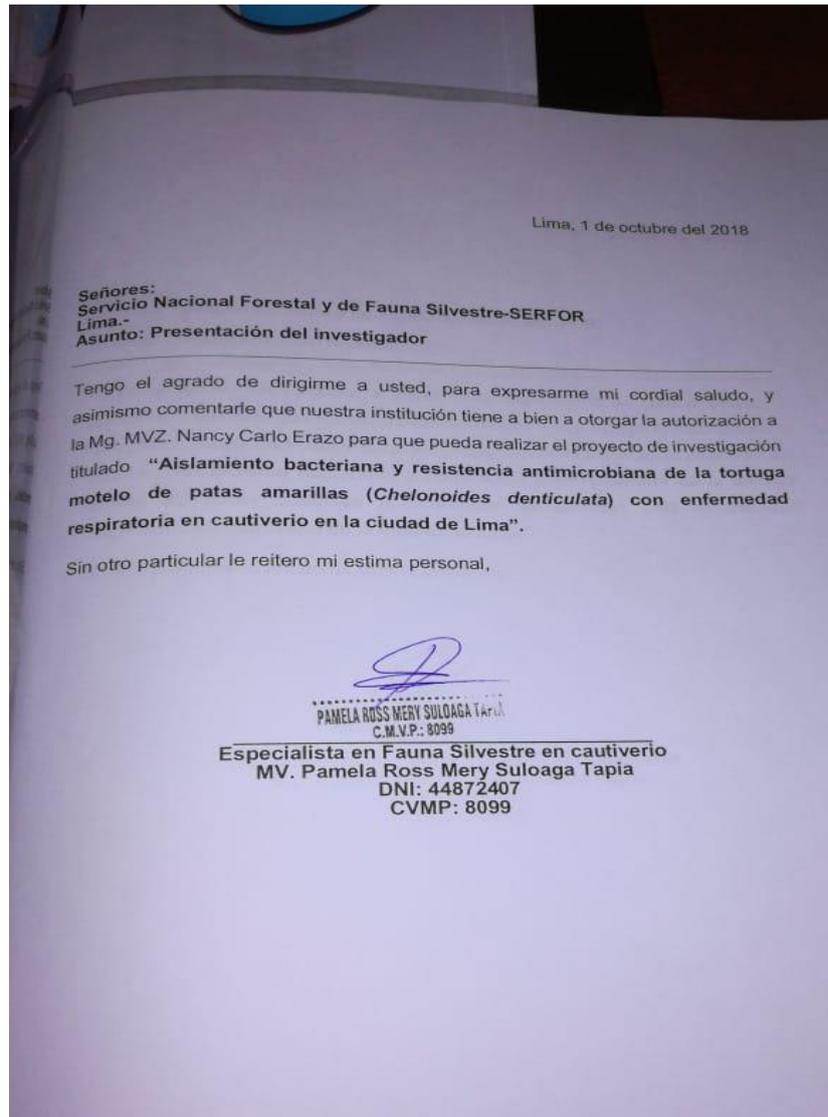


Figura 7: Autorización pertinente del parque Zonal Huáscar  
Fuente: Parque Zonal Huáscar-

## ANEXO 8

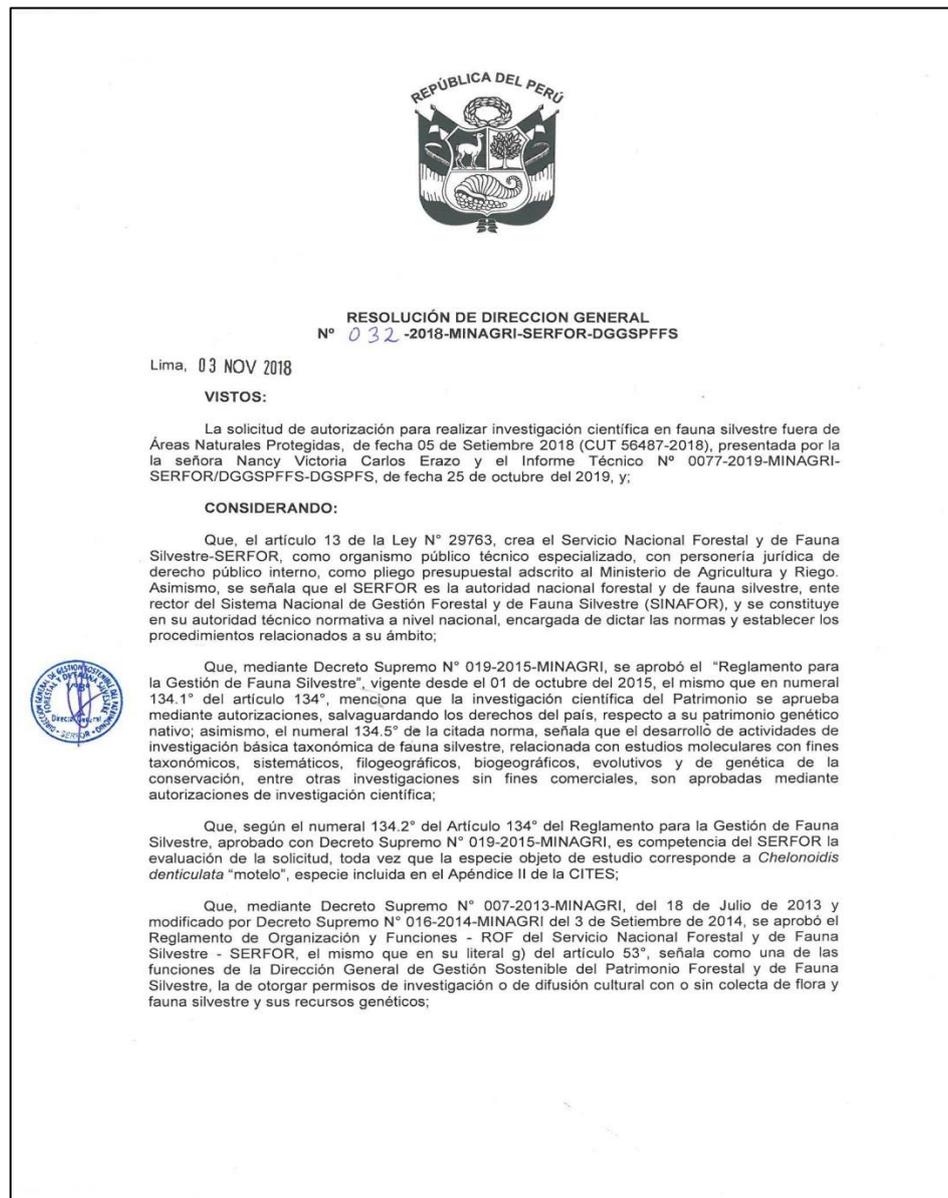


Figura 8: Resolución de Dirección General N° 032-SERFOR/DGGDPFFS

Fuente: Servicio Forestal y de Fauna Silvestre (SERFOR), 2018

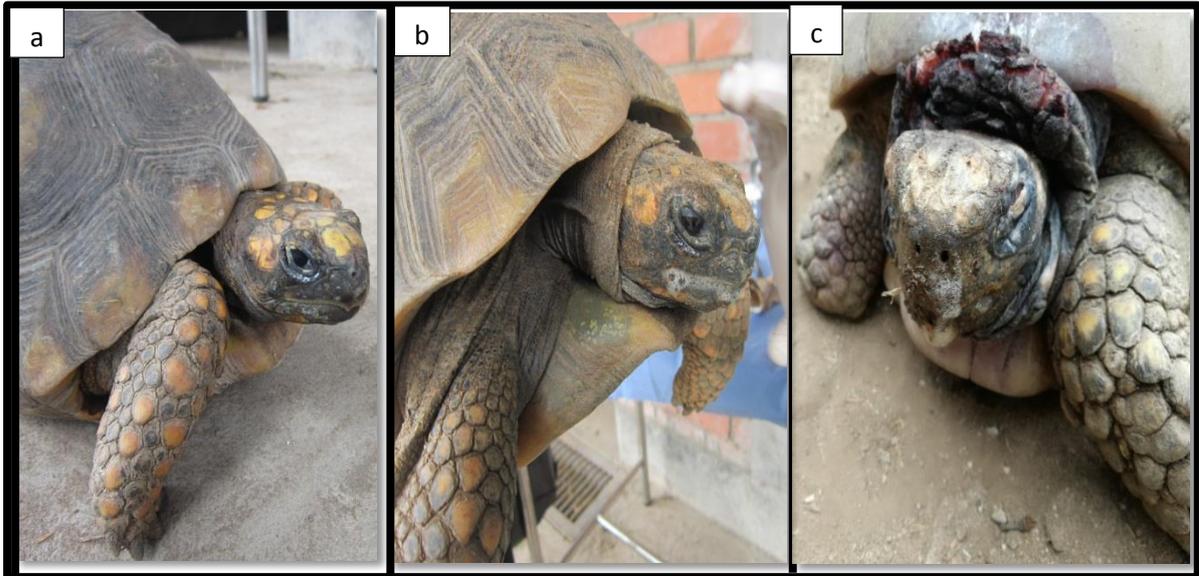
**ANEXO 9**

Figura 9: a) secreción ocular y narina dilatada b) paciente con ligera deshidratación, secreción ocular y salivación c) paciente con presencia de liquenificación, excesiva secreción ocular más inflamación de las narinas proceso crónico

Fuente: Elaboración propia, 2019.



## ANEXO 11



Figura 11: a) Peso del individuo b) sujeción para toma de muestra

Fuente: Elaboración propia, 2019.

## ANEXO 12



Figura 12: Toma de muestras de la secreción de narinas de individuos con enfermedad respiratoria

Fuente; Elaboración propia, 2019.

## ANEXO 13



Figura 14: a) Microaplicadores (Hisopos) b) Materiales con todo lo necesario para la toma de muestra.

Fuente: Elaboración propia, 2019.

## ANEXO 14



Figura 13: Identificación de los individuos mediante letras

Fuente: Elaboración propia, 2019.

## ANEXO 15



Figura 15: a) Tubos de Clary Blair b) rotulación de tubos c) caja de polietileno para el transporte de muestras.

Fuente: Elaboración propia, 2019.

## ANEXO 16

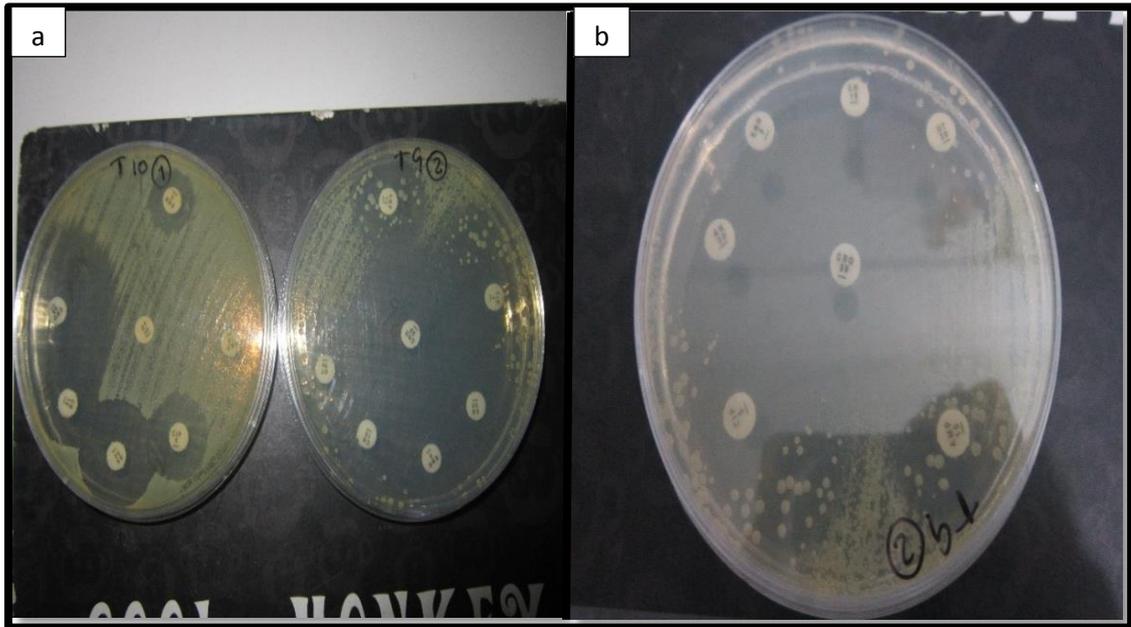


Figura 16: a) Placas con agar de Mueller Hilton b) Discos de antibióticos seleccionados según el estudio

Fuente: Elaboración propia, 2019.

## ANEXO 17

Cuadro 2: Interpretación de las antibiogramas en función del diámetro de las halo de inhibición para los antimicrobianos estudiados.

Antimicrobiano	Carga del disco (µg)	Diámetro del halo de inhibición (mm)		
		S	I	R
<b>Ampicilina</b>	10(µg)	≥17	14-16	≤13
<b>Amikacina</b>	30(µg)	≥17	15-16	≤14
<b>Ciprofloxacina</b>	5(µg)	≥21	16-20	≤5
<b>Enrofloxacina</b>	5(µg)	≥21	16-20	≤5
<b>Gentamicina</b>	10(µg)	≥15	13-14	≤12
<b>Oxitetraciclina</b>	30(µg)	≥15	12-14	≤11
<b>Ceftriaxona</b>	30(µg)	≥23	20-22	≤19

Fuente: CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for Antimicrobial susceptibility testing; Twenty-third informational supplement. January; 2013.

## ANEXO 18

Cuadro 3: resultados de análisis del antibiograma

Codigo	Sexo	Bacteria	AMPICILINA	AMIKACINA	CEFTRIAXONA	CIPROFLOXACINA	ENROFLOXACINA	GENTAMICINA	OXITETRACICLINA	CUENTA
T-01	M	<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	S	S	S	S	S	R	1
T-01	M	<i>Pasteurella sp.</i>	S	S	S	S	S	S	S	1
T-02	M	<i>Aeromona sp.</i>	S	S	S	S	S	S	S	1
T-03	M	<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	S	S	S	S	S	R	1
T-04	M	<i>Pseudomona sp.</i>	R	S	S	S	S	S	R	1
T-04	M	<i>Citrobacter freundii</i>	R	S	S	R	R	S	R	1
T-05	H	<i>Serratia sp.</i>	S	S	S	S	I	S	S	1
T-05	H	<i>Pseudomona sp.</i>	R	S	S	S	S	S	S	1
T-06	H	<i>Moraxella sp.</i>	R	S	S	S	S	S	I	1
T-07	H	<i>Pasteurella sp.</i>	S	S	S	S	S	S	S	1
T-08	H	<i>Pseudomona sp.</i>	R	S	I	S	I	S	S	1
T-08	H	<i>Moraxella sp.</i>	R	S	I	S	I	S	S	1
T-09	H	<i>Klebsiella oxytoca</i>	I	S	S	I	S	S	S	1
T-09	H	<i>Proteus vulgaris</i>	R	S	S	I	I	S	R	1
T-10	M	<i>Proteus vulgaris</i>	R	S	S	I	R	S	R	1
T-10	M	<i>Citrobacter koseri</i>	S	S	S	S	S	S	S	1
T-11	M	<i>Aeromona sp.</i>	S	S	S	S	S	S	R	1
T-11	M	<i>Citrobacter koseri</i>	R	S	S	S	I	S	S	1
T-12	M	<i>Proteus vulgaris</i>	R	S	S	S	I	S	R	1
T-12	M	<i>Citrobacter koseri</i>	R	S	S	S	I	S	R	1
T-12	M	<i>Aeromona sp.</i>	R	S	S	S	S	S	I	1
T-13	H	<i>Klebsiella oxytoca</i>	R	S	S	S	R	S	R	1
T-14	M	<i>Klebsiella oxytoca</i>	R	S	S	S	R	S	R	1
T-14	M	<i>Citrobacter koseri</i>	R	S	S	S	I	S	R	1
T-15	M	<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	S	I	S	S	S	R	1
T-16	H	<i>Pseudomona sp.</i>	R	S	S	S	I	S	R	1
T-16	H	<i>Klebsiella oxytoca</i>	R	S	S	S	I	S	R	1
T-17	M	<i>Pseudomona sp.</i>	R	S	R	S	S	S	R	1
T-17	M	<i>Serratia sp.</i>	R	S	R	S	S	S	R	1
T-18	H	<i>Pseudomona sp.</i>	R	S	R	S	R	S	R	1
T-18	H	<i>Proteus vulgaris</i>	R	S	R	I	R	S	R	1
T-19	H	<i>Pseudomona sp.</i>	R	S	S	S	I	S	R	1
T-20	H	<i>Pseudomona sp.</i>	R	S	S	I	I	S	R	1
T-20	H	<i>Moraxella sp.</i>	S	S	S	S	R	S	S	1
T-21	H	<i>Citrobacter freundii</i>	R	S	S	S	I	S	R	1
T-21	H	<i>Proteus vulgaris</i>	R	S	I	S	R	S	R	1
T-22	H	<i>Klebsiella oxytoca</i>	R	S	R	S	I	S	R	1
T-22	H	<i>Citrobacter freundii</i>	R	S	S	S	S	S	R	1
T-23	H	<i>Pseudomona sp.</i>	R	S	S	S	R	S	S	1
T-23	H	<i>Klebsiella oxytoca</i>	R	S	S	S	R	R	R	1
T-24	H	<i>Klebsiella oxytoca</i>	R	S	S	S	I	S	S	1
T-24	H	<i>Pseudomona sp.</i>	R	S	S	I	R	S	R	1
T-24	H	<i>Aeromona sp.</i>	R	S	S	S	I	S	R	1
T-25	H	<i>Pseudomona sp.</i>	R	S	S	I	R	S	R	1
T-26	H	<i>Pseudomona sp.</i>	R	S	S	S	R	S	R	1

Fuente: Elaboración propia.