

SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS EN BACTERIAS AEROBIAS DE LA TORTUGA DEL BOLSÓN *Gopherus flavomarginatus* EN CAUTIVERIO EN DURANGO, MÉXICO

SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS IN AEROBIC BACTERIA OF THE BOLSON TORTOISE *Gopherus flavomarginatus* IN CAPTIVITY IN DURANGO, MEXICO

Cristina García-De la Peña^{1*}, César Abraham Quezada-Rivera¹, Jesús Martínez-Luna¹, Alejandra González-Durán¹ y Rafael Castro-Franco²

¹Laboratorio de Medicina de la Conservación. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Universidad s/n Fracc. Filadelfia C.P. 35010, Gómez Palacio, Durango, México.

²Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo. A.P. 8, C.P. 35230. Bermejillo, Durango, México.

*Autor para correspondencia: cristina.g.delapena@gmail.com

RECIBIDO: 05/05/2016

RESUMEN

ACEPTADO: 16/07/2016

PALABRAS CLAVE:

gentamicina
levofloxacina
tetraciclina
Vitek2Compaq

KEYWORDS:

gentamicin
levofloxacin
tetracycline
Vitek2Compaq

La tortuga del Bolsón, *Gopherus flavomarginatus*, es una especie en peligro de extinción cuyas poblaciones silvestres ocupan actualmente sólo una pequeña fracción de su distribución original; las poblaciones en cautiverio pueden ser una estrategia importante para la protección de esta especie. La información sobre las bacterias patógenas y su sensibilidad a antibióticos es importante para la conservación de especies tanto en vida libre como en cautiverio. Los quelonios son particularmente vulnerables a una amplia variedad de enfermedades bacterianas que disminuyen su capacidad reproductiva o que pueden provocarles la muerte. A la fecha existe escasa información microbiológica de la tortuga del Bolsón. En el presente estudio se determinaron las bacterias aerobias asociadas a distintos sitios de su cuerpo en una población de Durango, México, utilizando métodos tradicionales de cultivo, así como pruebas de sensibilidad a distintos antibióticos. Se aislaron 18 especies de bacterias (10 Gram positivas y ocho Gram negativas) entre las cuales se encontraron patógenas oportunistas como *Acinetobacter calcoaceticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Burkholderia cepacia*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp. y *Pseudomonas* spp. Tres especies de bacterias se registraron en el 60% de los distintos sitios corporales de muestreo (*Enterococcus gallinarum*, *Staphylococcus lentus* y *S. xylosum*). La piel fue el sitio con el porcentaje más alto de especies de bacterias (44.4 %). La gentamicina fue el antibiótico que presentó 100 % de sensibilidad para bacterias Gram positivas y Gram negativas, seguida por la levofloxacina. La tetraciclina fue eficaz en el 90% de las especies de bacterias Gram positivas.

ABSTRACT

Bolson tortoise, *Gopherus flavomarginatus* is an endangered species with wild populations now occupying only a small fraction of their original range; captive populations can be an important strategy to protect this species. Information regarding pathogenic bacteria and sensitivities to antibiotics is important for the conservation of species both in the wild and in captivity. Chelonians are particularly vulnerable to a wide variety of bacterial diseases that could decrease their reproductive capacity or cause death. There is currently limited information regarding the microbiology of Bolson tortoises. This study focuses on identifying aerobic bacteria associated to several body sites in a captive population of Bolson tortoises in Durango, México, using traditional culture methods, as well as the bacteria's sensitivity to antibiotics. Eighteen species (10 Gram negative and eight Gram positive) were isolated and some pathogenic opportunistic bacteria were recorded such as *Acinetobacter calcoaceticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Burkholderia cepacia*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., and *Pseudomonas* spp. Three bacterial species were found in 60 % of the corporal sites (*Enterococcus gallinarum*, *Staphylococcus lentus*, and *S. xylosum*). Skin had the highest number of species of bacteria (44.4 %). Gentamicine showed 100 % sensitivity in Gram positive and negative bacteria, followed by levofloxacin. Tetracycline was effective in 90 % of Gram positive bacteria.

INTRODUCCIÓN

La presencia de bacterias patógenas en el ambiente donde viven los reptiles es un hecho común (Martínez-Silvestre y Soler-Massana, 2008). Algunos estudios han determinado las especies de bacterias asociadas a quelonios terrestres registrando aquellas que pueden ser infecciosas oportunistas; generalmente éstas pertenecen a las familias Enterobacteriaceae y Pseudomonadaceae (p. e., *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus* y *Pseudomonas*) (Morafka et al. 1986; Dickinson et al., 2001; Martínez-Silvestre y Soler-Massana, 2008; Ordorica et al., 2008; Charles-Smith et al., 2009; Ruiz et al., 2010). En Norteamérica se han reportado epidemias bacterianas importantes en tortugas terrestres causando graves descensos poblacionales tanto en vida libre como en cautiverio. Un ejemplo es la tortuga del desierto de Mojave y Sonora *Gopherus agassizii*, la cual ha presentado infecciones del tracto respiratorio superior debido a las bacterias *Mycoplasma agassizii* y *Pasteurella testudinis* (Snipes y Biberstein, 1982; Jacobson et al., 1991; Brown et al., 1994; Dickinson et al., 2001; Johnson et al., 2006). En este caso, antibióticos como la claritromicina, doxiciclina, enrofloxacin y oxitetraciclina han sido evaluados y se han utilizado para el tratamiento de la micoplasmosis en esta tortuga (Jenkins, 1991; Stein, 1996; Johnson et al., 1998; Wimsatt et al., 1999).

Debido a que no todas las bacterias patógenas de las tortugas son sensibles a los mismos antibióticos, es necesario realizar antibiogramas específicos para la población o individuo infectado y así proporcionar el tratamiento antimicrobiano adecuado (Brenner et al., 2002; McArthur et al., 2004; Díaz et al., 2006; Foti et al., 2009).

La tortuga del Bolsón (*Gopherus flavomarginatus*) es la especie de reptil más grande de Norteamérica y es endémica del Bolsón de Mapimí en México. Está catalogada como especie en peligro de extinción por la Norma Oficial Mexicana 059 (SEMARNAT, 2010), como vulnerable en la lista roja de especies amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (van Dijk y Flores-Villela, 2007) y se encuentra en el Apéndice I de la CITES (2013). Actualmente, se encuentra protegida dentro de la Reserva de la Biosfera de Mapimí en México siendo la especie bandera de esta área (CONANP, 2006).

Debido a su relevancia e importancia para la conservación, existen algunas poblaciones en cautiverio que han tenido éxito en su reproducción. Tal es el caso de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma de Chapingo, Bermejillo, Durango, México. En 1997 se inició con una población de 23 tortugas adultas y a la fecha se mantienen en cautiverio más de 100 ejemplares de distintas edades (Castro-Franco et al., 2007).

Debido a la escasa información bacteriológica que existe para la tortuga del Bolsón y para prevenir infecciones de tipo respiratorio, digestivo, urinario y/o sistémicas, en este estudio se aislaron las bacterias aerobias asociadas al cuerpo de *Gopherus flavomarginatus* en cautiverio (URUZA-

Chapingo) y se analizó la susceptibilidad de esas bacterias a distintos antibióticos. Esta información contribuye al conocimiento de las bacterias asociadas a tortugas terrestres de este género en cautiverio, además de que brinda alternativas de antibióticos para esta población.

MATERIALES Y METODOS

Área de estudio. El estudio se realizó en la población de *G. flavomarginatus* existente en la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA) de la Universidad Autónoma Chapingo, Bermejillo, Durango, México entre las coordenadas 25°33'51" N y 103°36'43" W a una elevación de 1113 metros sobre el nivel del mar. El terrario tiene una extensión de 100 m² delimitados por malla metálica con una ambientación naturalista similar al Desierto Chihuahuense, donde predominan especies vegetales como *Prosopis glandulosa* y *Opuntia* spp.; el suelo es arenoso arcilloso, lo que le confiere una textura adecuada para que las tortugas excaven sus madrigueras (Morafka, 1982; Nussear y Tuberville, 2014).

Obtención de muestras biológicas. En el año 2012 se tomaron muestras biológicas de tortugas aparentemente sanas que fueron seleccionadas al azar. La muestra oral se obtuvo mediante un hisopo estéril (muestras por duplicado). Otras muestras fueron tomadas por frotis en ojos, caparazón, plastrón, cabeza, cloaca, piel de patas, uñas, heridas cicatrizadas y excremento. Los hisopos fueron depositados en medio de transporte Stuart (Copan®) y mantenidos a 4°C.

Cultivo de bacterias. Las muestras fueron inoculadas en cajas Petri con medio de cultivo generalista (agar bacteriológico) y selectivos (SS: Salmonella-Shigella, S-110: Estafilococos, EMB: Eosina y Azul de Metileno). Estas fueron incubadas entre 24 y 48 h a 25-30°C. Se realizó el aislamiento de las colonias presentes de acuerdo con su diversidad morfológica colonial, se efectuaron resiembras consecutivas hasta obtener cultivos axénicos y las bacterias aisladas fueron separadas por tinción de Gram y morfología microscópica (Cappuccino y Sherman, 2004).

Determinación taxonómica. La determinación taxonómica de las bacterias aisladas se llevó a cabo mediante el sistema automatizado VITEK®2Compact de Biomerieux® para bacterias Gram negativas y Gram positivas en el laboratorio de Microbiología del Hospital de Urgencias Médicas del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE) Unidad Torreón, Coahuila, México. Sólo se aceptaron aquellos resultados en los que la determinación taxonómica fue mayor al 95% de certeza según el VITEK®2Compact.

Sensibilidad a antibióticos. Para la realización de las pruebas de sensibilidad se utilizaron Multidiscos Gram positivos II y Gram negativos II BioRad®. Para las bacterias Gram positivas los antibióticos probados fueron ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg), cefotaxima (30 µg), cefepime (30 µg), cefuroxina (30 µg), dicloxacilina (1 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), levofloxacin (5 µg), penicilina

(10 µg), tetraciclina (30 µg) y trimetoprim-sulfametoxazol (25 µg). Para las bacterias Gram negativas los antibióticos fueron amikacina (30 µg), ampicilina (10 µg), levofloxacina (5 µg), cefalotina (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftriaxona (30 µg), cloranfenicol (30 µg), gentamicina (10 µg), netilmicina (30 µg), nitrofurantoína (300 µg), cefepime (30 µg) y trimetoprim-sulfametoxazol (25 µg). Se utilizó la técnica de Kirby-Bauer con las modificaciones recomendadas por CLSI (2007). Las bacterias se clasificaron dependiendo del diámetro del halo de inhibición como sensibles, intermedias o resistentes según los criterios establecidos por BioRad®. Cada antibiograma fue realizado por duplicado para cada especie de bacteria.

Análisis de datos. Se calculó el porcentaje de especies bacterianas por sitio de muestreo y se llevó a cabo una prueba de Ji-cuadrada ($P < 0.05$) para probar diferencia significativa entre las frecuencias de presencia por sitio. También se obtuvo el porcentaje de sitios de muestreo en que se registró cada especie bacteriana. Por otra parte, se calculó el porcentaje de sensibilidad completa por tipo de antibiótico y el porcentaje de sensibilidad completa por especie bacteriana tanto para bacterias Gram positivas como Gram negativas.

RESULTADOS

En total se aislaron 18 especies de bacterias, 10 Gram positivas y ocho Gram negativas (Tabla 1). La piel fue el sitio con el más alto porcentaje de especies (44.4%), seguido por la cloaca, las uñas y el excremento (38.8%, respectivamente;

Tabla 1). Sin embargo, estadísticamente no se presentó algún sitio con mayor número de especies de bacterias ($\chi^2 = 6.27$, g.l. = 9, $P = 0.712$). Tres especies de bacterias fueron las más frecuentes al registrarse respectivamente en el 60% de los sitios corporales de muestreo: *Enterococcus gallinarum*, *Staphylococcus lentus* y *S. xylosus*.

Todas las especies Gram positivas mostraron sensibilidad a la gentamicina, seguido por la levofloxacina y la tetraciclina (90%, respectivamente; Tabla 2). El 30% de estas bacterias presentaron sensibilidad a la dicloxacilina y solo el 20% al cefepime. Las especies Gram positivas más sensibles a los antibióticos utilizados fueron *Staphylococcus sciuri* y *S. xylosus* (91.6% de los antibióticos, respectivamente), seguido por *Leuconostoc mesenteroides cremoris* (83.3%). Por el contrario, la más resistente fue *Staphylococcus lentus* que fue sensible solo al 33.3% de los antibióticos.

Las bacterias Gram negativas mostraron 100% de sensibilidad a cuatro antibióticos: amikacina, gentamicina, levofloxacina y trimetoprim-sulfametoxazol (Tabla 3). En contraste, todas las especies de bacterias Gram negativas fueron resistentes a la ampicilina y a la cefalotina. Las especies Gram negativas más sensibles a los antibióticos fueron *Burkholderia cepacia*, *Citrobacter freundii* y *Escherichia coli* (83.3% de los antibióticos, respectivamente). Por el contrario, la más resistente fue *Aeromonas hydrophila* que fue sensible solo al 50% de los antibióticos.

Tabla 1. Bacterias aerobias aisladas de los distintos sitios corporales de muestreo en *Gopherus flavomarginatus* en cautiverio en la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo, Bermejillo, Durango, México.

Bacteria	O	Os	C	P	Cl	R	Pi	U	H	E	% SME
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>					*	*	*			*	40.0
<i>Aerococcus viridans</i>								*		*	20.0
<i>Aeromonas hydrophila</i>		*				*					20.0
<i>Burkholderia cepacia</i>		*						*			20.0
<i>Citrobacter freundii</i>	*				*					*	30.0
<i>Enterococcus gallinarum</i>	*	*		*	*			*		*	60.0
<i>Escherichia coli</i>					*					*	20.0
<i>Granulicatella adiacens</i>				*			*				20.0
<i>Kytococcus sedentarius</i>			*								10.0
<i>Klebsiella oxytoca</i>					*						10.0
<i>Kocuria kristinae</i>							*	*		*	30.0
<i>Leuconostoc mesenteroides cremoris</i>				*	*		*	*	*		50.0
<i>Micrococcus lylae</i>		*				*	*				30.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>									*		10.0
<i>Pseudomonas putida</i>		*						*			20.0
<i>Staphylococcus lentus</i>			*	*		*	*		*	*	60.0
<i>Staphylococcus sciuri</i>	*			*		*	*				40.0
<i>Staphylococcus xylosus</i>	*	*		*	*		*	*			60.0
%ESM	22.2	33.3	11.1	33.3	38.8	27.7	44.4	38.8	16.66	38.8	

O = oral, Os = ojos, C = caparazón, P = plastron, Cl = cloaca, R = rostro, Pi = piel, U = uñas, H = herida cicatrizada, E = excremento. %ESM = porcentaje de especies bacterianas por sitio de muestreo; %SME = porcentaje de sitios de muestreo en que se registró cada especie bacteriana; * = presencia.

Tabla 2. Antibiograma para las bacterias Gram positivas asociadas a *Gopherus flavomarginatus* en cautiverio en la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo, Bermejillo, Durango, México.

Bacteria	AM	CF	CTX	CXM	DC	E	FEP	GE	LEV	PE	SXT	TE	% SCE
<i>Aerococcus viridans</i>	s	s	s	r	r	r	r	s	s	r	s	s	58.3
<i>Enterococcus gallinarum</i>	s	r	r	r	r	s	r	s	r	s	r	s	41.6
<i>Granulicatella adiacens</i>	s	s	s	s	r	r	r	s	s	s	s	s	75.0
<i>Kytococcus sedentarius</i>	s	s	s	s	r	r	r	s	s	s	s	r	66.6
<i>Kocuria kristinae</i>	r	r	s	r	r	r	s	s	s	r	s	s	50.0
<i>Leuconostoc mesenteroides cremoris</i>	s	s	r	s	s	s	r	s	s	s	s	s	83.3
<i>Micrococcus lylae</i>	s	s	s	s	r	s	r	s	s	r	s	s	75.0
<i>Staphylococcus lentus</i>	r	r	r	r	r	s	r	s	s	r	r	s	33.3
<i>Staphylococcus sciuri</i>	s	s	s	s	s	s	r	s	s	s	s	s	91.6
<i>Staphylococcus xylosus</i>	s	s	s	s	s	r	s	s	s	s	s	s	91.6
%SCA	80.0	70.0	70.0	60.0	30.0	50.0	20.0	100	90.0	60.0	80.0	90.0	

AM = ampicilina, CF = cefalotina, CTX = cefotaxima, CXM = cefuroxina, DC = dicloxacilina, E = eritromicina, FEP = cefepime, GE = gentamicina, LEV = levofloxacina, PE = penicilina, SXT = trimetoprim-sulfametoxazol, TE = tetraciclina, s = sensible, r = resistente, %SCA = porcentaje de sensibilidad completa por tipo de antibiótico, %SCE = porcentaje de sensibilidad completa por especie bacteriana.

Tabla 3. Antibiograma para las bacterias Gram negativas asociadas a *Gopherus flavomarginatus* en cautiverio en la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo, Bermejillo, Durango, México.

Bacteria	AK	AM	CF	CL	CRO	CTX	FEP	GE	LEV	NET	NF	STX	% SCE
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	s	r	r	s	s	s	s	s	s	s	r	s	75.0
<i>Aeromonas hydrophila</i>	s	r	r	r	r	r	r	s	s	s	s	s	50.0
<i>Burkholderia cepacia</i>	s	r	r	s	s	s	s	s	s	s	s	s	83.3
<i>Citrobacter freundii</i>	s	r	r	s	s	s	s	s	s	s	s	s	83.3
<i>Escherichia coli</i>	s	r	r	s	s	s	s	s	s	s	s	s	83.3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	s	r	r	s	s	s	s	s	s	r	s	s	75.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	s	r	r	s	r	r	s	s	s	s	r	s	58.3
<i>Pseudomonas putida</i>	s	r	r	r	s	s	s	s	s	s	r	s	66.6
%SCA	100	0	0	75.0	75.0	75.0	87.5	100	100	87.5	62.5	100	

AK = amikacina, AM = ampicilina, CF = cefalotina, CL = cloranfenicol, CRO = ceftriaxona, CTX = cefotaxima, FEP = cefepime, GE = gentamicina, LEV = levofloxacina, NET = netilmicina, NF = nitrofurantoína, SXT = trimetoprim-sulfametoxazol, s = sensible, r = resistente, %SCA = porcentaje de sensibilidad completa por tipo de antibiótico, %SCE = porcentaje de sensibilidad completa por especie bacteriana.

DISCUSIÓN

Todas las especies de bacterias registradas para *Gopherus flavomarginatus* en cautiverio en el presente estudio son comunes en el suelo de muchos hábitats (Atlas y Bartha, 2008), y siendo una especie de tortuga de vida terrestre es de esperarse la presencia de estas bacterias en su cuerpo. Algunas de estas bacterias aisladas fueron reportadas anteriormente en tortugas de esta especie en vida libre en la Reserva de la Biosfera Mapimí, como *Acinetobacter calcoaceticus*, *Escherichia coli* y *Citrobacter freundii* (Morafka et al., 1986). A nivel de género, Ordorica et al. (2008) reportaron a *Kytococcus sedentarius*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus xylosus* y *Micrococcus* spp. en las fosas nasales de *G. agassizii* en cautiverio, mismas bacterias que se aislaron de *G. flavomarginatus* en el presente estudio. Las bacterias *Acinetobacter calcoaceticus*, *Aeromonas*

hydrophila, *Burkholderia cepacia*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp. y *Pseudomonas* spp. son microorganismos patógenos oportunistas de los cuales se ha documentado su ingreso a tejidos dañados por traumas o aprovechando las condiciones de estrés e inmunosupresión del hospedero causando graves enfermedades en tortugas terrestres, marinas (*Testudo graeca*, *Caretta caretta*, *Lepidochelys olivacea*) (Martínez-Silvestre et al., 1999; Dickinson et al., 2001; Santoro et al., 2006; Martínez-Silvestre y Soler-Massana, 2008). Así mismo, en estudios realizados en *G. agassizii*, Homer et al. (1998) determinó la presencia de *Pseudomonas* spp. y *Citrobacter* spp. en muestras de coanas y colon indicando la importancia de ésta última como el posible agente causal de la enteritis ulcerativa en esta especie de tortuga; además se le ha asociado a la enfermedad ulcerativa cutánea septicémica en tortugas acuáticas especialmente en hospederos

inmunocomprometidos (Rosi, 1996; Jacobson, 2007). Por otra parte, existen registros de *Pseudomonas* spp. como el agente causal de desórdenes en el tracto respiratorio superior de quelonios y de *Aeromonas* spp. como promotor de infecciones timpánicas en reptiles, anfibios y peces, así como posible responsable de ulceraciones gástricas y septicemia hemorrágica en quelonios y ofidios (Carter et al., 2005; Carriquirborde, 2010).

La mayoría de las especies de bacterias sometidas a ensayos de sensibilidad a antibióticos en el presente estudio, fueron analizadas en trabajos anteriores (Brenner et al., 2002; Díaz et al., 2006; Ordorica et al., 2008; Foti et al., 2009; Pachón-Cubillos et al., 2011). Sin embargo, no se presentaron las mismas respuestas ante la mayoría de los antibióticos. Por ejemplo, en *G. agassizii* se reportó a *Kytococcus sedentarius*, *Staphylococcus sciuri* y *S. xylosus* como sensibles a todos los antibióticos utilizados (Ordorica et al., 2008) mientras que en el presente estudio con *G. flavomarginatus*, *K. sedentarius* mostró una sensibilidad al 66.6% de los antibióticos y *S. sciuri* y *S. xylosus* al 91.6%, respectivamente. Otro ejemplo es un estudio de Díaz et al. (2006) donde probaron sensibilidad antibiótica en bacterias de tortugas japonesas *Trachemys scripta elegans* sometiendo a ensayo a ocho especies (entre ellas *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* que también se reportan en *G. flavomarginatus* en el presente estudio). Al comparar ambos estudios se observó que en algunos casos se presentaron patrones de sensibilidad contrarios ya que todas las bacterias aisladas de *T. s. elegans* fueron resistentes a la gentamicina (siendo un antibiótico de amplio espectro), mientras que para las bacterias de *G. flavomarginatus* este fue uno de los antibióticos que mostró 100% de sensibilidad. Así mismo, *Citrobacter freundii* se reportó como sensible a la ampicilina y en el presente estudio fue resistente (Díaz et al., 2006). Estas diferencias pueden deberse a que aunque existen especies bacterianas similares asociadas a distintas especies de tortugas, los microorganismos pueden desarrollar características adaptativas únicas con respecto a su hospedero y al hábitat en que se desarrollan, lo cual modifica su reacción a los antibióticos. Considerando estos hallazgos, sería recomendable que ante una infección bacteriana en tortugas no se administren antibióticos (aunque sean de amplio espectro) sin antes llevar a cabo los antibiogramas correspondientes y evitar extrapolar tratamientos antimicrobianos entre individuos y/o poblaciones de la misma especie.

En el presente estudio con *G. flavomarginatus*, la gentamicina fue el antibiótico que logró un 100% de sensibilidad para bacterias Gram positivas y Gram negativas. Este es un aminoglicósido de amplio espectro que en ocasiones ha sido utilizado para tratar infecciones bacterianas profundas en tortugas (Mcarthur et al., 2004). Sin embargo, presenta un rango muy estrecho de seguridad ya que provoca efectos nefrotóxicos en reptiles (Montali et al., 1979), por lo cual se recomienda utilizarla en combinación con penicilinas o cefalosporinas (Gibbons et al., 2013). La levofloxacina mostró el nivel más alto de sensibilidad bacteriana en Gram positivos y negativos después de la gentamicina. Es un antibiótico

de amplio espectro del grupo de las fluoroquinolonas. La administración de esta sustancia es común en mamíferos; sin embargo, aunque se ha probado con buenos resultados en la bacteria oral patógena de serpientes *Stenotrophomonas maltophilia* (Hejnar et al., 2007), no se tiene información sobre su efecto fisiológico en tortugas por lo que su uso en este tipo de reptiles requiere investigación. En el caso de las bacterias Gram positivas, la tetraciclina fue eficaz en el 90% de las especies de bacterias de *G. flavomarginatus*. Este antibiótico es ampliamente utilizado para tratar infecciones oculares e incluso infecciones nasales por *Mycoplasma* spp. en tortugas (Mcarthur et al., 2004).

CONCLUSIONES

De las 18 especies de bacterias aisladas en *G. flavomarginatus*, *Enterococcus gallinarum*, *Staphylococcus lentus* y *S. xylosus* se presentaron respectivamente en el 60% de los sitios corporales muestreados, siendo la piel el sitio con el mayor porcentaje (44.44%) de especies de bacterias. Todas las bacterias aisladas mostraron sensibilidad a la gentamicina la cual es un antibiótico de amplio espectro comúnmente utilizado en tortugas terrestres ante infecciones oculares, orales y de vías respiratorias, pero que debe utilizarse con cautela debido a efectos secundarios negativos en los órganos de los quelonios. La levofloxacina presentó un alto porcentaje de sensibilidad en bacterias Gram positivas y negativas, sin embargo, es necesario realizar estudios sobre su impacto fisiológico en las tortugas ya que hasta la fecha no se ha documentado.

AGRADECIMIENTOS

A la URUZA de la Universidad Autónoma Chapingo por las facilidades para llevar a cabo la toma de muestras. Al personal del Laboratorio de Microbiología del Hospital de Urgencias Médicas del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE) Unidad Torreón por el préstamo del equipo VITEK®2Compact. A Cameron W. Barrows por su apoyo en la revisión del "Abstract" y a los revisores anónimos que con sus sugerencias enriquecieron la contribución.

LITERATURA CITADA

- Atlas RM, Bartha R (2008) Microbial Ecology. 4th edition. Benjamin Cummings, Palo Alto, CA, EUA. 640 pp.
- Brenner D, Lewbart G, Stebbins M, Herman DW (2002) Health survey of wild and captive bog turtles (*Clemmys muhlenbergii*) in North Carolina and Virginia. *J. Zoo. Wildl. Med.* 33: 311-316.
- Brown MB, Schumacher IM, Klein PA, Harris K, Correll T, Jacobson ER (1994) *Mycoplasma agassizii* causes upper respiratory tract disease in the desert tortoise. *Infect. Immun.* 62: 4580-4586.
- Capuccino J, Sherman N (2004) Microbiology: A Laboratory Manual 7th edition. Benjamin Cummings, Palo Alto, CA, EUA. 544 pp.
- Carriquirborde M (2010) Enfermedades zoonóticas asociadas a reptiles. *Vet. Arg.* 27: 1-6.

- Carter SL, Horne BD, Herman DW, Nichols DK, Haas CA, Mitchell JC (2005) Bacterial pneumonia in free-ranging bog turtles, *Glyptemys muhlenbergii*, from North Carolina and Virginia. *J. N. C. Acad. Sci.* 121: 170-173.
- Castro-Franco R, Hernández-Herrera J, Ortiz-Cano H (2007) Manejo en cautiverio e incorporación a su hábitat de la tortuga (*Gopherus flavomarginatus*) del Bolsón de Mapimí, Durango, México. *Rev. Chapingo Serie Zonas Aridas* 6: 223-227.
- Charles-Smith LE, Lewbart GA, Aresco MJ, Cowen P (2009) Detection of *Salmonella* in Gopher Tortoises (*Gopherus polyphemus*) during two relocation efforts in Florida. *Chelonian Conserv. Bi.* 8: 213-216.
- CITES, Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (2013) Apéndices I, II and III. United Nations Environment Programme. 46 pp.
- CONANP, Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (2006) Programa de conservación y manejo Reserva de la Biosfera de Mapimí. México, D.F. 179 pp.
- Díaz MA, Cooper RK, Cloeckaert A, Siebeling, RJ (2006) Plasmid-mediated high-level gentamicin resistance among enteric bacteria isolated from pet turtles in Louisiana. *Appl. Environ. Microb.* 72: 306-312.
- Dickinson VM, Duck T, Timothy, Schwalbe CR, Jarchow JL, Trueblood MH (2001) Nasal and cloacal bacteria in free-ranging desert tortoises from the western United States. *J. Wildlife Dis.* 37: 252-257.
- Foti M, Giacopello C, Bottari T, Fisichella V, Rinaldo D, Mammina C (2009) Antibiotic resistance of Gram negatives isolates from loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the Central Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 58: 1363-1366.
- Gibbons PM, Klaphake E, Carpenter JW (2013) Reptiles. En: Carpenter JW, Marion CJ, editores. Exotic animal formulary. 4th ed. Elsevier Saunders. St. Louis Missouri, EUA. Pp. 84-90.
- Hejnar P, Bardon J, Sauer P, Kolar M (2007) *Stenotrophomonas maltophilia* as a part of normal oral bacterial flora in captive snakes and its susceptibility to antibiotics. *Vet. Microbiol.* 121: 357-362.
- Homer BL, Berry KH, Brown MB, Ellis G, Jacobson ER (1998) Pathology of Diseases in wild Desert Tortoises from California. *J. Wildlife Dis.* 34: 508-523.
- Jacobson ER, Gaskin JM, Brown MB, Harris RK, Gardiner CH, Lapointe JL, Adams HP, Reggiardo C (1991) Chronic Upper Respiratory Tract Disease of free-ranging Desert tortoises (*Xerobates agassizii*). *J. Wildlife Dis.* 27: 296-316.
- Jenkins JR (1991) Medical management of reptile patients. *Compend Cont Educ Pract. Vet.* 13: 980-988.
- Johnson AJ, Morafka DJ, Jacobson ER (2006) Seroprevalence of *Mycoplasma agassizii* and tortoise herpesvirus in captive desert tortoises (*Gopherus agassizii*) from the Greater Barstow Area, Mojave Desert, California. *J. Arid Environ.* 67: 192-201.
- Johnson JD, Mangone B, Jarchow JL (1998) A review of mycoplasmosis infections in tortoises and options for treatment. *Proc. Annu. Conf. Assoc. Rept. Amph. Vet. Kansas City:* 89-92.
- Martínez-Silvestre A, Mateu de Antonio E, Ramis A, Majó N (1999) Etiología y descripción clínica de la rinitis crónica en tortuga mora (*Testudo graeca*). *Rev. Esp. Herp.* 13: 27-36.
- Martínez-Silvestre A, Soler-Massana J (2008) Enfermedades infecciosas y parasitarias en tortugas. *Consulta Difus. Vet.* 150: 43-54.
- Mcarthur S, Wilkinson R, Meyer J (2004) Medicine and surgery of tortoises and turtles. Blackwell Publishing LTD. Oxford UK. 579 pp.
- Montali RJ, Bush M, Smeller JM (1979) Pathology of nephrotoxicity of gentamicin in snakes-model for reptilian gout. *Vet. Pathol.* 16:108-115.
- Morafka D (1982) The status and distribution of the Bolson tortoise (*Gopherus flavomarginatus*). En: Bury BE, editor. North American tortoises: conservation and ecology, United States Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Washington D. C. Pp. 71-94.
- Morafka DJ, Yates RA, Jarchow J, Roszkopf Jr. WJ, Adest GA, Aguirre G (1986) Preliminary results of microbial and physiological monitoring of the Bolson Tortoise, *Gopherus flavomarginatus*. En: Rocek Z, editor. Studies in Herpetology, Societas Herpetologica Europaea, Praga, Checoeslovaquia. Pp. 657-652.
- Nussear KE, Tuberville TD (2014) Habitat characteristics of North American tortoises. En: Rostal DC, McCoy ED, Mushinsky HR, editores. Biology and Conservation of North American Tortoises, Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland. EUA. Pp. 77-84.
- Ordorica AM, Pough FH, Cate S, Deutch CE (2008) Seasonal variations in microbial communities in the nasal passages of captive desert tortoises. *J. Ariz. Nev. Acad. Sci.* 40:121-127.
- Pachón-Cubillos DA, Pulido A, Moreno, C (2011) Aislamiento y Serotificación de *Salmonella* sp. en estanques con *Cocodyrlyus intermedius* y testudines cautivos en Villavicencio - Colombia. *Rev. MVZ Córdoba* 16: 2564-2575.
- Ruiz, N, Calle ES, Gálvez CH (2010) Identificación de *Salmonella* sp. en tortugas Motelo (*Geochelone denticulata*) de un criadero de la ciudad de Iquitos. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 21: 140-143.
- Rossi JV (1996). Dermatology. En: Mader DR, editor. Reptile medicine and surgery. WB Saunders, Toronto, Canadá. Pp. 104-117.
- Santoro M, Orrego CM, Hernández G (2006) Flora bacteriana cloacal y nasal de *Lepidochelys olivacea* (Testudines: Cheloniidae) en el pacífico norte de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 54: 43-48.
- SEMARNAT, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2010) Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010. Protección ambiental, especies de flora y fauna silvestres de México, categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio, y lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación, Jueves 30 de diciembre de 2010, 1:1.77. Ciudad de México, México.
- Snipes KP, Biberstein EL (1982) *Pasteurella testudinis*. nov: a parasite of desert tortoises. *Int J. Syst. Bacteriol.* 32: 201-210.
- Stein G (1996) Reptile and amphibian formulary. En: Mader DR, editor. Reptile Medicine and Surgery. WB Saunders Co, Philadelphia, EUA. Pp. 465-472.
- van Dijk PP, Flores-Villela O (2007) *Gopherus flavomarginatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2007: e.T9402A12983328.
- Wimsatt JH, Johnson J, Mangone BA, Tothill A, Childs JM, Peloquin CA (1999) Clarithromycin pharmacokinetics in the desert tortoise (*Gopherus agassizii*). *J. Zoo Wildl. Med.* 30: 36-43.