



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA

ESTUDIO DE LA FLORA NORMAL BACTERIANA AEROBIA EN EL ARMADILLO *Dasyus novemcinctus*

TESIS PROFESIONAL

ERNESTO SAMPERIO CORREA

México, D. F.

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

LA REALIZACION DE ESTA TESIS SE LLEVO A CA-
BO EN LAS INSTALACIONES DEL LABORATORIO DE
INVESTIGACIONES INMUNOLOGICAS, S.S.A.

CARPIO 492.29. PISO.

A MIS PADRES:

Hay algunos que dan poco de lo mucho que poseen, y lo cedan ostentosamente; pero sus ocultos deseos hacen de esas dádivas obsequios sin valor.

Hay algunos que tienen poco y lo dan todo.

Estos son los que creen en la vida y en la bondad de ésta, y su arca jamás se encuentra vacía.

Hay algunos que dan con placer, y este placer es su recompensa.

Y hay algunos que dan con dolor, y este dolor es su bautismo.

Pero hay algunos que dan, y al dar no sienten dolor - ni buscan placer alguno, ni dan por apremios de virtud;

Dan como en el valle el mirto, que enfunde de su fragancia en el ambiente.

A:

LILA Y FAMILIA FINKENTHAL

MIS HERMANAS, ANA, IRMA, MARIAN, TERE

MIS TIOS, PRIMOS, SOBRINOS Y CUÑADOS

MIS AMIGOS Y A LOS COMPAÑEROS DE ESTUDIO

MIS MAESTROS

QBP. ROSA MA. MARTINEZ B.
DRA. MA. EUGENIA AMEZCUA DE BERNES
DRA. SILVIA GIONO CEREZO
VICTOR CAZARES
ANTONIO MEZA
ELVIRA MALLEN
MARIO SANCHEZ SERVIN

Por la desinteresada ayuda que me brindaron en la
realización de esta tesis.

DR. ALEJANDRO ESCOBAR GUTIERREZ

Por su orientación, dirección y valiosa colaboración.

I N D I C E

1. Introducción	pag.1-10
a) Taxonomía y Filogenia	
b) Características Morfológicas	
2. Objetivos	pag.11
3. Material y Métodos	pag.12-17
4. Resultados	pag.18-30
5. Discusión y Conclusiones	pag.31-36
6. Resumen	pag.37
7. Bibliografía	pag.38-41

INTRODUCCION

En México solamente existe una sola clase de armadillos, el Dasypus novemcinctus que se encuentra ampliamente distribuido en las vertientes del Océano Pacífico y en la del Golfo de México, en zonas que reúnen las características ambientales adecuadas para la vida del armadillo. Las zonas donde viven los armadillos son en planos, cerros y bosques húmedos. Solamente no se localizan en pantanos o zonas muy frías. Ellos mismos cavan rápidamente sus madrigueras que son tortuosas y con varias salidas. Son animales nocturnos aunque más frecuentemente crepusculares y sólo en época de celo suelen verse en parejas. Ocasionalmente pueden compartir su madriguera con otros mamíferos pequeños que no ofrecen competencia o peligro para ellos. Las crías son mantenidas en cámaras subterráneas en nidos formados por pasto seco, hojarasca, ramas y otros desechos. Su alimentación consiste principalmente de insectos y otros invertebrados, aunque se ha informado que pueden comer huevos, anfibios, reptiles, aves y mamíferos pequeños. Las presas son encontradas más por el olfato que por la vista, atrapadas con las uñas y retenidas por la lengua que es aspera y pegajosa. En las estaciones en que el alimento es escaso, sea por falta de lluvia o por frío excesivo, los armadillos aprovechan las grasas que acumularon durante el período donde hubo exceso de comida. No son capaces de hibernar y son muy sensibles al frío, lo cual ha limitado su dispersión hacia el norte del Continente o a las regiones de alta montaña (11,21). Debido a sus características morfológicas y hábitos de vida, los ar-

madillos no tienen un gran número de depredadores, aunque entre éstos se cuenta al hombre. Su captura no es muy difícil y generalmente son buscados por su carne, que es succulenta y de excelente sabor. Además, en casi todos los países de América Latina se han utilizado sus caparazones para elaborar objetos artesanales, como instrumentos musicales (charangos), cuencos o bolsas de mujer.

a) Taxonomía y filogenia.

Los armadillos son mamíferos de la subclase Eutheria, superorden Edentata, orden Xenarthra y familia Dasypodidae. En esta familia quedan incluidas las 20 especies de armadillos vivientes distribuidos en nueve géneros: tres especies en el género Chaetophractus, una en Euphractus, una en Zaedyus, una en Priodontes, cuatro en Cabassous, dos en Tolypeutes, seis en Dasypus, una en Chlamyphorus y una en Burmeisteria (18). Los edentados se originaron en el paleoceno y pertenecen a la misma serie filogenética (Unguiculados), donde también se ubican los insectívoros, dermópteros, quirópteros, folidotos y primates (17). Probablemente el lugar de origen de los armadillos haya sido América del Norte hace unos 40 millones de años y rápidamente se extendieron por todo el Continente. Su mayor florecimiento fue en el eoceno donde llegaron a existir hasta 29 géneros diferentes de los cuales 20 están extinguidos (21). En la actualidad solamente sobreviven tres familias: Bradipodidae (perezoso), Mirmecophagidae (hormigero) y Dasypodi-

dae (armadillo). La familia Dasypodidae comprende ocho géneros, uno de los cuales es el género Dasy-
pus, al que pertenecen el D. novemcinctus de México
el D. hybridus, el D. sabanicola, el D. kappleri y
el D. septemcinctus de Sudamérica. El Chaetophrac-
tus villosus, conocido en la Argentina con el nom -
bre de peludo, pertenece al género Chaetophractus -
de los armadillos. Existen 21 especies vivientes de
armadillos, distribuidos en Norte, Centro y Sudamé-
rica. Es digno de mencionar el hecho de que los ar-
madillos se encuentran únicamente en el hemisferio-
occidental.

b) Características Morfológicas.

Los armadillos adultos son animales más bien pe-
queños que miden entre 70 y 90 cm, de longitud to-
tal, incluida la cola y llegan a pesar hasta 6 kg.
En general, en todos los armadillos la característi-
ca morfológica más llamativa es la de poseer un ca-
parazón que cubre la parte superior del cuerpo y es
está formado por numerosas placas o escudetes óseos,
recubiertas por una epidermis queratinosa. Presenta
una coloración café oscuro, negrusco a veces con zo-
nas laterales más claras de color sepia amarillento.
El caparazón está dividido en cuatro segmentos. El-
primero cubre la cabeza y está separado del cuerpo-
por un pliege de la piel. El segundo cubre la super-
ficie dorsal del tórax. El tercer segmento corres--

ponde a las bandas que se encuentran articuladas -- unas con otras por pliegues cutáneos. El número de estas bandas es característico de cada especie: 9, en D. novemcinctus; 8, en D. sabanicola y 7, en D. hybridus y semtencinctus. El cuarto segmento cubre la parte posterior del animal, por encima de la cadera. La cola es larga y está cubierta por bandas soldadas entre sí, cuyo grosor va disminuyendo hacia la extremidad distal. Entre la cola y la parte posterior del caparazón hay un pliegue cutáneo. Ocasionalmente es posible encontrar anomalías en las bandas en cuanto a un número mayor de placas o a la presencia de una banda extra que puede ser total o parcial. Poseen escasos pelos que son gruesos, tiesos y ásperos que son más abundantes en las partes flexibles de la piel de la región abdominal. Las extremidades anteriores y posteriores son vigorosas, sumamente cortas de tal modo que el animal en reposo oculta su cabeza y queda totalmente cubierto por su caparazón, que le sirve de protección contra las agresiones externas. Las anteriores tienen cuatro dedos y las posteriores cinco, y rematan en garras fuertes, que son utilizadas para hacer excavaciones. Las mandíbulas carecen de insicivos y caninos pero tienen de catorce a dieciseis dientes molariformes -- no esmaltados en la mandíbula y otros tantos en la maxila. Su mejor defensa es la carrera a modo de alcanzar sus madrigueras a menudo situadas en matorrales densos y espinosos que no lo afectan y si impiden el acceso a sus depredadores (11,21).

Los estudios hechos en este animal fueron encaminados durante largo tiempo a su biología y fisiología. Una de las primeras observaciones científicas sobre esta especie animal corresponde a la de Newman y Patterson (14), quienes describieron en 1910 su desarrollo embriológico y la producción de cuádruples homocigotos. Posteriormente, esta especie ha sido utilizada en diversos campos de la investigación biomédica, sin embargo en 1969 Kirchner y col (9) y Storrs y col (19), demostraron que el armadillo es útil como modelo experimental para la investigación de la lepra cuyo agente causal es el Mycobacterium leprae. Este hallazgo es de enorme importancia ya que por primera vez se cuenta con la posibilidad de obtener un gran abasto de bacilos, así como de estudiar aspectos de la bacteria y de sus relaciones huésped-parásito que antes no podían analizarse por la falta de un buen modelo experimental. De esta manera se ha incrementado el estudio de estos mamíferos y es importante mencionar el hallazgo en D. novemcinctus silvestres del sureste de los Estados Unidos, de un Mycobacterium indistinguible de M. leprae. En 1975, Walsh y col (13) identificaron siete armadillos infectados naturalmente en el Estado de Louisiana, en Estados Unidos y más adelante, el mismo grupo a encontrado unos cuarenta más en el mismo Estado, uno en Texas y otro en Mississippi, de dos más originarios de Louisiana (13). Anderson de uno procedente de Texas (13) que murió en el Zoológico de San Diego, a consecuencia de la infección leprosa.

Desde entonces se ha despertado el interés para contar con toda la información posible sobre la biología de los armadillos ya que eso redundará en la posibilidad de contar con granjas para su mantenimiento y su multiplicación para usarlos en estudios de lepra experimental. Como cualquier otro animal silvestre, los armadillos tienen parásitos que los infectan o infestan, aunque su abundancia y diversidad es mucho menor de la que se encuentra en otros mamíferos. Sin embargo, hay algunos agentes que también pueden infectar al ser humano y su conocimiento resulta de verdadera importancia, ya que el armadillo puede así ser considerado como reservorio natural para dicho agente.

El interés de la Bacteriología radica en la identificación de la flora normal bacteriana de los armadillos y las posibles bacterias patógenas. La literatura científica contiene muchas publicaciones para la identificación directa de géneros y/o especies lo más rápido posible.

Se han identificado varias cepas de Salmonella en diversos armadillos. En Argentina se aislaron salmonelas del grupo C₂ en el 65% de D. hybridus y en el 58% de Chaetophractus villosus recién capturados (16). En Estados Unidos se encontró un D. novemcinctus portador de las mismas salmonelas C₂ (15) y en México en el Laboratorio de Investigaciones Inmunológicas de la S.S.A. se han localizado a cuatro armadillos infectados con estas bacterias de los grupos C y B (13), ésta última muy probablemente originada por contaminación humana.

Hay un informe que indica que en Panamá fueron estudiados 32 armadillos de los cuales dos estaban infectados con una Borrelia recurrentis capaz de causar cuadros de fiebre recurrente (19). En Argentina, se ha descrito la presencia de leptospiras en armadillos Chaetophractus villosus. Los serotipos de las leptospiras aisladas corresponden en su mayoría a cepas saprófitas aunque por lo menos en 13 casos si se ha tratado de cepas patógenas (16).

Los organismos invasores, fundamentalmente diversas especies de Shigella y Salmonella, es probable que sean las bacterias más frecuentemente identificadas; sin embargo, hay trabajos que demuestran predominio de bacterias productoras de enterotoxinas, fundamentalmente Escherichia coli, aunque se ha demostrado que otras enterobacterias producen dichas toxinas: Klebsiella, Proteus y Pseudomonas entre otras. Es importante señalar que algunas cepas de Staphylococcus aureus producen una toxina que es causa de diarrea aguda (3).

Por lo general el huésped, el reservorio, la fuente y el portador de estas infecciones, es el hombre. Los objetos sólo excepcionalmente son responsables de la transmisión, ya que es requisito indispensable que hayan sido contaminados recientemente. El mecanismo de transmisión es principalmente el contacto directo. El período de incubación es variable de acuerdo al agente etiológico. Sin lugar a dudas son los cocos Gram positivos los agentes etiológicos más frecuentes

pero es necesario destacar la importancia que tienen las bacterias Gram negativas, particularmente en medios mal saneados y con desnutrición prevalente. La prevención debe hacerse básicamente por medio del mejoramiento de la alimentación, de la higiene del lugar y de la contaminación ambiental -- del medio. Los organismos mesofílicos aerobios son todos aquellos microorganismos que crecen en un medio sencillo de gelosa nutritiva entre 30 37°C durante 24 - 48 horas en presencia de oxígeno (7). - En cuanto a la determinación de organismos coliformes son todos aquellos bacilos cortos, no esporulados aerobios y anaerobios facultativos, Gram negativos, y que la mayoría son lactosa positivos con producción de ácido y gas a 32 37°C en 48 horas. - Una gran variedad de bacterias siempre presente en la materia fecal del hombre y animales superiores -- satisface la definición anterior. También pertenecen a este grupo ciertas bacterias propias del suelo y los vegetales (7).

En los mamíferos terrestres la llamada flora -- normal del aparato respiratorio consiste de una -- amplia variedad de bacterias y hongos los que viven en o sobre los animales sin producirles enfermedades. El término flora normal es un concepto -- convencional pues debe tenerse en cuenta que el número de especies y bacterias varían considerablemente bajo diferentes circunstancias; como son clima, situación geográfica, alimentación, etc. Caracter -- menciona a las siguientes bacterias como flora

normal del aparato respiratorio: En boca y nasofaringe; Staphylococcus aureus, Sth. epidermidis, -- Streptococci, Bacillus, Veionella, Pasteurella; le vaduras, incluyendo Candida albicans y Haemophylus spp. En tráquea, bronquios y pulmones se reporta - que pocas bacterias y hongos residen en estas es- - estructuras. Esto nos puede indicar que la mayoría - de las enfermedades del aparato respiratorio son - ocasionadas por una fuente no bacteriana. Las in- - fecciones del aparato respiratorio tienen etiolo- - gía viral primaria en su mayor parte. Algunos auto- - res consideran que el 90% o más son originalmente- - virales y solo el 10% o menos tienen etiología bac- - teriana primaria. Las bacterias patógenas del apa- - rato respiratorio son Streptococcus pyogens, Sta- - phylococcus aureus, bacilos tuberculosos y su ori- - gen es principalmente humano. En 1930 Dack demos- - tró que el estafilococo era capaz de producir una- - toxina específica y que daba lugar a un cuadro de- - gastroenteritis bien definido (8).

En cuanto al intestino, la flora normal predomi- - nante, presente una gran variedad de géneros y es- - pecies: Estreptococos fecales, E. coli, Klebsiella Enterobacter, Pseudomonas spp, Proteus spp, Entero- - cocos, Estafilococos; Clostridium perfringes, Cl.- - septicum, anaerobios Gram negativos; espiroquetas, lactobacilos. En determinadas circunstancias algu- - nas especies pueden ser patógenas sobre todo cuan- - do atacan a otros órganos y aparatos. Shigella y - Salmonella se consideran siempre patógenas para el

hombre, infectando la ultima a varias especies de animales (5).

El propósito de este trabajo es el de contribuir al conocimiento de la flora bacteriana normal de armadillos procurando su identificación de ser posible hasta especie y de esta manera considerar las posibles enfermedades infecciosas que puedan afectar a estos mamíferos recién capturados. Por limitaciones de trabajo, solamente se restringirá el estudio a la flora aerobia. El principal problema que se presenta es el manejo que se da a estos animales desde el momento de su captura, traslado y finalmente en el laboratorio, donde se encuentran en mayor contacto con el hombre y es muy factible que aumente el número de bacterias por contaminación humana. Aunado al hecho de que estos animales constituyen una de las especies más características de la fauna de nuestro Continente, donde se les halla ampliamente distribuidos y con una densidad tal que les permite estar en contacto frecuente con las poblaciones rurales a quien incluso les sirve de alimento.

O B J E T I V O S

- 1) Aislar e identificar las bacterias aerobias de - la flora normal de armadillos silvestres, de ser posible hasta especie, tanto las de flora normal, como las posibles bacterias por contaminación humana.
- 2) Identificar las bacterias que pudieran ser patógenas al hombre.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

- 4.- Armadillos. Se utilizaron 14 armadillos capturados en las localidades de Escuinapa, Sinaloa y 8 atrapados en San Luis Ayucan municipio de Jilotzingo Edo. de México, en los meses de enero y febrero de 1982. En la observación morfológica se confirmó que todos los especímenes se trataban de Dasypus novemcinctus.

- 2.- Captura. Los armadillos fueron capturados después del crepúsculo o durante las primeras horas de la noche, que es cuando salen en busca de alimento (4). En casi toda la República Mexicana, los campesinos dedicados a esta actividad emplean perros adiestrados, pero esto tiene el inconveniente de que pueden lesionarlos severamente y aún matarlos. Una vez encontrados hay que atraparlos rápidamente ya que huyen a gran velocidad y en pocos minutos pueden cavar un agujero mayor que su cuerpo por medio de sus patas delanteras, en tanto que con las traseras arrojan hacia los lados la tierra que han retirado. Aunque se recomienda utilizar una red con el mismo diseño que las entomológicas, gruesa, hecha de algún material muy resistente y provista de un mango sólido y largo, lo que generalmente se usa es un costal.

3.- Transporte. Los armadillos se pueden transportar en forma individual dentro de bolsas de lona. Aun cuando el sitio definitivo esté alejado del de la captura, pueden permanecer hasta 48 horas sin --- agua o alimento aunque no es conveniente esperar tanto tiempo. Los armadillos provenientes del estado de México, se trasladaron en bolsas de lona, los de Sinaloa se mantuvieron en corrales y se -- trasladaron en jaulas de plástico por vía aérea. Para manipularlos se emplearon guantes gruesos y se procuró no tomarlos de la cola debido a que es frágil y puede ser dañada con cierta facilidad.

4.- Jaulas. Puesto que los armadillos son naturalmente solitarios es preferible mantenerlos en jaulas individuales. Sin embargo si éstas tienen un tamaño adecuado pueden reunirse hasta tres animales -- simultáneamente. En la granja provisional del Laboratorio de investigaciones Inmunológicas, S.S.A (L.I.I.S.S.A), se cuenta con jaulas de 120 cm de ancho, 80 cm de largo y 60 cm de altura. Interiormente tienen superficies muy lisas recubiertas -- por azulejo, con el propósito de poder limpiarlas con facilidad y de que los armadillos no se lesio nen patas, cola y hocico con algún bordo. Del mismo modo, las puntas libres de la red metálica que se usa para cubrir la puerta están protegidas a -

modo de no dejarlas expuestas. En el diseño de la jaula se tomó en cuenta que debe evitarse el acceso a roedores e insectos, al mismo tiempo que pueda fluir libremente el agua utilizada en su limpieza. Ya que los armadillos gustan de mantenerse escondidos, se les proveyó de paja abundante, seca, muy limpia, que se cambió cada tercer día. La limpieza de la jaula se hace lo más frecuentemente que es, por lo menos dos veces a la semana y se utilizan detergentes ligeros, un desinfectante y agua en abundancia que elimine todo rastro de los primeros ya que pueden abrasarse fácilmente las patas de los animales.

- 5.- Alimentación. Puesto que la alimentación natural de los armadillos es prácticamente imposible de reproducir artificialmente, hay que buscar sustitutos que sean adecuados para los animales cautivos. Se alimentan proporcionando diariamente a cada armadillo una mezcla con 80g de atún, un huevo, 200ml de leche y 200ml de agua. Los restos de comida se retiran diariamente. El agua se les abastece constantemente y en ella pueden incluirse suplementos vitamínicos en caso de ser necesario. También pueden incluirse frutas, siempre y cuando sean frescas (4,17,20).
- 6.- Manipulación. Es de gran importancia manipular debidamente a los armadillos para la revisión ru-

tinaria, para la toma de muestras o para administrarles algún producto, es necesario sacarlos de la jaula y mantenerlos sobre la mesa de trabajo. Aunque estos animales no muerden, hay que tener cuidado de sus uñas con las cuales pueden provocar heridas muy serias. Si el procedimiento a seguir es rápido basta sujetar al armadillo entre una o dos personas mientras una tercera realiza el trabajo.

Se observaron cuidadosamente las condiciones y estado de salud de los ejemplares y se procuró tomar muestras de aquellos que pudieran morir pronto a causa del mal estado, producto de su captura y transporte.

- 7.- Exudados nasal, faríngeo y coprocultivo. Se tomaron muestras con hisopos estériles, raspando en círculos la zona deseada de cada uno de los animales. Se procuró que la muestra fuera representativa de la flora presente. Se procedió de acuerdo a como se explicó anteriormente en la forma de manipular debidamente a los armadillos.
- 8.- Medios de cultivo. Se utilizaron diversos medios que fueron preparados de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En todos los casos se esterilizaron con vapor húmedo a presión (15 lb/pulg²) durante 15 minutos.

Para los primoaislamientos se utilizaron tanto me dios de enriquecimiento como selectivos: Exudado-nasal y faríngeo; agar infusión cerebro corazón - (agar BHI); agar sangre de carnero al 5%; agar nu tritivo; agar sal manitol. Coprocultivos; caldo - selenito; caldo tetracionato adicionado con yodo; agar eosina azul de metileno (EMB); agar de Mac.-Conkey; agar Salmonella-Shigella (SS); agar verde brillante de fenol-lactosa-sacarosa (VB). Para la identificación final se utilizaron: agar triple - azucar hierro (TSI); agar lisina-hierro (LIA); me dio movilidad-indol-ornitina (MIO).

9.- Incubación. Solamente se usaron condiciones de -- aerobiosis. Se incubaron en estufa a 35 - 37°C du rante 18 - 24 horas.

10.- Identificación.

- a. Colonias. Se buscaron las características morfológicas de las colonias como son: tamaño, co lor, forma, elevación, superficie, aspecto, -- bordes y consistencia.
- b. Tinción. Se practicó la técnica de Gram para - distinguir cocos y bacilos Gram positivos y -- Gram negativos. Esto se hizo solamente con los gérmenes obtenidos de las colonias y nunca de las muestras directas.
- c. Asignación de especies. De acuerdo con su mor-

fología y afinidad por el Gram, se siguieron criterios convencionales para la búsqueda de especies (19). Se restringió la identificación a bacterias cuya abundancia relativa en las cajas de primoaislamiento sugiriera que se trataba de una flora abundante en el sitio de obtención. Los cocos Gram positivos si estaban agrupados en racimos se confirmó que -- eran Staphylococcus porque crecieron en un medio selectivo y las especies se establecieron por la capacidad para coagular el plasma ---- (prueba de coagulasa). Los bacilos Gram negativos se les aisló en EMB, SS, Mac. Conkey y posteriormente se resebraron en TSI, MIO y -LIA. Las características coloniales y fisiológicas de los gérmenes encontrados se informan en los resultados.

R E S U L T A D O S

Tinción e identificación colonial. Se lograron identificar las siguientes bacterias..

Fam. Micrococcaceae

Staphylococcus aureus

1.- Morfología y afinidad tintoreal:

Cocos Gram positivos

2.- Características coloniales en agar sal-manitol:

Tamaño - 1mm

Color - blanco o amarillo dorado

Forma - circular

Elevación - convexa

Superficie - lisa

Aspecto - húmedo

Bordes - enteros

Consistancia - suave

3.- Otras: Manitol +

Coagulasa +

Staphylococcus epidermidis

- 1.- Morfología y afinidad tintoreal:
Cocos Gram positivos
- 2.- Características coloniales en agar sal-manitol
Tamaño - 1mm
Color - blanco
Forma - circular
Elevación - convexa
Superficie - lisa
Aspecto - húmedo
Bordes - enteros
Consistencia - suave
- 3.- Otras: Manitol -
Coagulasa -

Fam. Enterobacteriaceae

Escherichia coli

- 1.- Morfología y afinidad tintoreal:
Bacilos Gram negativos
- 2.- Características coloniales en medio EMB:
Tamaño - 2mm
Color - rosa y verde metálico
Forma - circular
Elevación - convexa
Superficie - lisa
Aspecto - húmedo
Bordes - enteros
Consistencia - suave
- 3.- Otras: Consultar las tablas 1,2 y 3.

Salmonella typhi

- 1.- Morfología y afinidad tintoreal:
Bacilos Gram negativos
- 2.- Características coloniales en medio SS:
Tamaño - 1mm
Color - blanco
Forma - circular
Elevación - convexa
Superficie - lisa
Aspecto - húmedo
Bordes - enteros
Consistencia - suave
- 3.- Otras: Consultar las tablas 1,2 y 3.

Salmonella enteritidis

- 1.- Morfología y afinidad tintoreal:
Bacilos Gram negativos
- 2.- Características coloniales en medio SS:
Tamaño - 1mm
Color - blanco
Forma - circular
Elevación - convexa
Superficie - lisa
Aspecto - húmedo
Bordes - enteros
Consistencia - cremosa
- 3.- Otras: Consultar las tablas 1,2 y 3.

Citrobacter freundii

- 1.- Morfología y afinidad tintoreal:
Bacilos Gram negativos
- 2.- Características coloniales en medio VB:
Tamaño - 2mm
Color - blanco y zonas verde amarillento
Forma - circular
Elevación - convexa
Superficie - lisa
Aspecto - húmedo
Bordes - enteros
Consistencia - cremosa
- 3.- Otras: Consultar las tablas 1,2 y 3.

Klebsiella sp

- 1.- Morfología y afinidad tintoreál:
Bacilos Gram negativos
- 2.- Características coloniales en medio EMB:
Tamaño - 2mm
Color - blanco o rosado, algunas con brillo me
tálico
Forma - circular
Elevación - convexa
Superficie - lisa
Aspecto - húmedo
Bordes - enteros
Consistencia - mucoide
- 3.- Otras: Consultar las tablas 1,2 y 3.

Enterobacter

- 1.- Morfología y afinidad tintoreál:
Bacilos Gram negativos
- 2.- Características coloniales en medio EMB:
Tamaño - 2mm
Color - metálico brillante
Forma - circular
Elevación - convexa
Superficie - lisa
Aspecto - húmedo
Bordes - enteros
Consistencia - suave
- 3.- Otras: Consultar las tablas 1,2 y 3.

Proteus

- 1.- Morfología y afinidad tintoreales
Bacilos Gram negativos
- 2.- Características coloniales en medio EMB:
 - Tamaño - 1mm
 - Color - blanco
 - Forma - circular
 - Elevación - convexa
 - Superficie - lisa
 - Aspecto - húmedo
 - Bordes - ondulados en oleadas
 - Consistencia - suave
- 3.- Otras: Consultar las tablas 1,2 y 3.

T A B L A 1

Reacciones de la familia Enterobacteriaceae en agar TSI

Género y Especie	Superficie	Picadura	Gas	H ₂ S
<u>Escherichia coli</u>	A (K)	A	+(-)	-
<u>Salmonella typhi</u>	K	A	-	-
Otras <u>Salmonellas</u>	K	A	+(-)	+++(-)
<u>Citrobacter freundii</u>	K (A)	A	+	+++(-)
<u>Klebsiella</u>	A	A	++	-
<u>Enterobacter</u>	A	A	++	-
<u>Proteus mirabilis</u>	K (A)	A	+	+++
<u>P. vulgaris</u>	A (K)	A	+	+++

K= Alcalino

A= Acido

El símbolo en paréntesis indica reacciones ocasionales

(6) pag. 14

T A B L A 2

Reacciones de la familia Enterobacteriaceae en medio LIA

Género y Especie	Superficie	Picadura	Gas	H ₂ S
<u>Escherichia coli</u>	K	K ó N	- ó +	-
<u>Salmonella</u>	K	A	-	-
<u>S. typhi</u>	K	K ó N	-	(+)-
<u>Citrobacter freundii</u>	K	A	- ó +	+ ó -
<u>Klebsiella</u>	K ó N	K ó N	- ó +	+
<u>Enterobacter aerogenes</u>	K	K ó N	+(-)	-
<u>E. agglomerans</u>	K	A	- ó +	-
<u>Proteus mirabilis</u>	R	A	-	-(+)
<u>P. vulgaris</u>	R	A	-	+(-)

K= Alcalino

R= Rojo (desaminación oxidativa)

El símbolo en paréntesis indica reacciones ocasionales

T A B L A 3

Reacciones de la familia Enterobacteriaceae en medio MIO

Género y Especie	Movilidad	Indol	Ornitina
<u>Escherichia coli</u>	+ ó -	+	+ ó -
<u>Salmonella</u>	+(-)	-	-
<u>S. typhi</u>	+(-)	-	-
<u>Citrobacter freundii</u>	+(-)	-	- ó +
<u>Klebsiella</u>	-	-	-
<u>Enterobacter</u>	+	-	+
<u>Proteus mirabilis</u>	+(-)	-(+)	+
<u>P. vulgaris</u>	+(-)	+(-)	-

(-)= Reacciones ocasionales negativas

(6) pag 16

DISTRIBUCION DE LA FLORA AEROBIA

En las tablas 4, 5 y 6 se muestran los resultados obtenidos en los diferentes armadillos que se estudiaron. Se informa como gérmenes aislados en el total de animales estudiados señalando el porcentaje correspondiente. Como puede observarse en las tablas 4 y 5 se logró aislar 2 especies de la familia Micrococcaceae aunque con un porcentaje muy bajo. En cuanto a la presencia de estas especies y de especies de la familia Enterobacteriaceae en los exudados nasal y faríngeo, en la discusión y las conclusiones se hace referencia de los posibles factores que hayan propiciado el aislamiento de estas especies. Se observa que hay diferentes porcentajes en la flora normal de los armadillos de Sinaloa y los de el Estado de México y en los primeros se aisló un mayor número de microorganismos en comparación con los últimos.

T A B L A 4

Flora aerobia aislada de exudados nasales en armadillos

Fam. Micrococcaceae	Procedentes de Sinaloa		Procedentes del Edo. de México	
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
<u>Staphylococcus aureus</u>	2/14	14.28	1/8	12.5
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1/14	7.14	N A	---
Fam. Enterobacteriaceae				
<u>Klebsiella sp</u>	9/14	64.28	1/8	12.5
<u>Escherichia coli</u>	N A	---	3/8	37.5
<u>Proteus mirabilis</u>	12/14	85.71	5/8	62.5
<u>P. vulgaris</u>	8/14	57.14	N A	---

* N A= No Aislada

T A B L A 5

Flora aerobia aislada de exudaos faringeos en armadillos

	Procedentes de Sinaloa		Procedentes del Edo. de México	
Fam. Micrococcaceae	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
<u>Staphylococcus aureus</u>	3/14	21.42	2/8	25.0
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1/14	7.14	2/8	25.0
Fam. Enterobacteriaceae				
<u>Escherichia coli</u>	12/14	85.71	5/8	62.5
<u>Klebsiella sp</u>	3/14	21.41	N A	---
<u>Proteus mirabilis</u>	10/14	71.42	6/8	75.0
<u>P. vulgaris</u>	4/14	28.57	N A	---

* N A = No aislada

T A B L A 6

Flora aerobia aislada de coprocultivos en armadillos

Fam. Enterobacteriaceae	Procedentes de Sinaloa		Procedentes del Edo. de México	
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
<u>Escherichia coli</u>	14/14	100.00	7/8	87.5
<u>Salmonella typhi</u>	2/14	14.28	N A	---
<u>Salmonella enteritidis</u>	3/14	21.42	3/8	37.5
<u>Citrobacter freundii</u>	8/14	57.14	N A	---
<u>Klebsiella sp</u>	9/14	64.28	4/8	50.0
<u>Enterobacter aerogenes</u>	5/14	35.71	4/8	50.0
<u>E. agglomerans</u>	3/14	21.42	3/8	37.5
<u>Proteus mirabilis</u>	11/14	78.57	8/8	100.0
<u>P. vulgaris</u>	3/14	21.42	N A	---

* N A = No aislada

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los mamíferos silvestres que habitan áreas muy cercanas al hombre pueden ser reservorios o transmisores de infecciones que afectan al ser humano o bien causar zoonosis. Los armadillos podrían actuar de este modo, especialmente por el hecho de que su carne es muy estimada entre la población rural y de que algunas regiones utilizan su caparazón con fines artesanales. En este trabajo se lograron identificar algunas bacterias aerobias que indudablemente forman parte de la flora normal de los armadillos, pero también otras que podrían tener un significado en la patología del armadillo y del ser humano.

El aislamiento de *Staphylococcus aureus* (tablas 4 y 5) es importante ya que se trata de una especie que generalmente es patógena del hombre y merece nuestra atención por buenas razones: las especies de S. aureus, causan una gran variedad de molestias corrientes, así como infecciones más serias tanto en el hombre como en otros animales y sus enterotoxinas son responsables de la mayoría de las intoxicaciones de alimentos. Su versatilidad en producir poblaciones resistentes a los antibióticos ha estimulado a la bacteriología, la genética y la bioquímica en busca de otras estrategias en la producción de nuevos antibióticos. La relación entre esta especie y sus huéspedes es muy íntima y por nosotros ignorada en el caso de los armadillos, especialmente cuando se rompen las barreras naturales de protección por causas di-

versas o se abaten los mecanismos de defensa por factores externos como son la desnutrición, estados infecciosos o la terapia inmunodepresora. Esta especie puede -- ser aislada esporádicamente de una gran variedad de --- fuentes, muchas de las cuales se acompañan por Micrococc cci u otras bacterias. Sitios como el suelo, la arena -- de la playa, el agua dulce y la de mar, la superficie -- de plantas, alimentos, carne, aves de corral, superfi-- cie de los artículos de cocina, utensilios, muebles, -- frazadas, carpetas, ropa, en el polvo y en el aire de -- casas y hospitales y albercas. Muchas de las fuentes -- mencionadas anteriormente fueron contaminadas por el -- ser humano u otros animales huéspedes de poblaciones de estafilococos. La aparición esporádica de estafilococos en el suelo, arena de playa, aguas naturales y en plantas es más difícil de explicar. S. aureus es capaz de -- producir una gran variedad de infecciones tanto en el -- hombre como en los animales. En los reportes más recien-- tes estan incluidos mastitis, sinovitis, furúnculos, su-- puraciones dérmicas, abscesos en varios órganos, piemia y septicemia. Considerando el hábitat tan amplio de esta especie es lógico el aislamiento que se logró obtener en un porcentaje menor o igual al 25% como se indica en las tablas 4 y 5.

De los aislamientos de especies de la familia Enterobacteriaceae en los exudados nasal y faríngeo (tablas-- 4 y 5) se puede pensar que no se trata de flora normal, sino que es una contaminación, tal vez de tipo endógena. Recordando los hábitos de estos animales que siempre --

identifican sus alimentos por medio del olfato y con ayuda de la lengua, lo cual provoca que haya un contacto directo entre el medio ambiente y sus fosas nasales y la cavidad oral. En los animales en cautiverio esta situación se ve incrementada ya que aunque se intente mantener las jaulas limpias de sus excretas, es imposible evitar su contacto con ellas y por tal motivo es de suponerse que se efectúe, la autocontaminación provocando el hallazgo de especies que generalmente son provenientes de la flora normal del intestino.

En los resultados obtenidos con los coprocultivos (tabla 6), se aislaron muchas especies aerobias de las consideradas como flora normal. Sin embargo se puede observar que se hallaron dos tipos de salmonelas en los armadillos procedentes de Sinaloa, en una proporción tan reducida que no puede considerarse que hubieran formado parte de la flora normal de esos ejemplares. También en los armadillos procedentes del Edo. de México se logró aislar una especie de salmonelas, pero al igual que el caso anterior, los porcentajes no representan la posibilidad de considerarlos como flora normal y nos indican posibles contaminaciones exógenas. Generalmente la fuente de contaminación de Salmonella es el intestino del ser humano, de un enfermo o de un portador sano. Esta bacteria es de diarreas infecciosas y su mecanismo de transmisión se establece por la ingestión de alimentos o aguas contaminadas. La probabilidad de que al consumir un alimento que contiene salmonelas se produzca una infección depende de la resistencia del consumidor, de la-

virulencia de la Salmonella y del número de microorganismos ingerido. Cuanto mayor sea el número de microorganismos participantes, mayor será la probabilidad de que el consumidor sufra la infección y más corto será el período de incubación. Las salmonelas que contaminan los alimentos suelen llegar a ellos directamente a partir de -- los animales y del hombre. Unas veces proceden de los -- mismos enfermos y otras de agentes portadores (7).

En este estudio se presentó el problema de que los -- animales provenientes de los Estados de Sinaloa y de México al llegar al L.I.I.S.S.A. presentaron severos daños causados por la captura y el período transcurrido desde su traslado, llegando así los animales muy debilitados -- lo cual genera una mayor predisposición a infecciones y a la muerte. Por lo tanto es muy importante el cuidado -- de los animales durante el traslado, por lo que es necesario tomar las debidas precauciones a fin de evitar dichas situaciones. En futuras investigaciones de este tipo sería conveniente tomar las muestras en el sitio mismo de la captura o dentro del lapso más corto posible.

En el caso de los armadillos en el laboratorio, la -- prevención debe encaminarse hacia el manejo sanitario de los alimentos que consumen, evitando que se contaminen -- desde el momento de su preparación hasta que sean ingeridos por estos animales. También es importante vigilar la dotación de agua potable y la correcta disposición y manejo de las excretas; debe procurarse el tratamiento de las basuras y el control de insectos que siempre actúan-

como vectores, siendo fundamental el saneamiento del lugar. También es muy necesario el tratamiento de -- los animales que presenten enfermedades así como el control de los portadores, especialmente en el personal que maneja habitualmente la granja. El tiempo -- que utilicé para esta investigación me permitió comprobar la eficiencia de este tipo de cuidados si se efectúan correctamente, ya que de los animales sobrevivientes se podía observar una casi total recuperación considerando el estado en que se encontraban a su arribo al L.I.I.S.S.A.

Considero que con el tiempo y de acuerdo a las posibilidades sería de gran importancia la instalación de una (s) granja (s) en los lugares que habitan estos animales, procurando que presenten la mayoría de las condiciones ambientales para intentar su reproducción, que sería muy benéfica para las poblaciones silvestres ya que de esta manera se podría incrementar su número y ser aprovechado para repoblar áreas que una vez fueron habitadas por estos animales. Por otro lado observando que en los últimos años ha adquirido gran importancia en la investigación científica, contar con un mayor número de estos ejemplares sería de gran utilidad para su adaptación como animales de experimentación, especialmente si está controlado su estado nutricional y las condiciones de vida.

En general podemos concluir que los armadillos -- desde el punto de vista científico se les puede considerar como excelentes animales modelo para reali--

zar estudios experimentales. Este es el caso del estudio del Mycobacterium leprae que no crece o lo hace muy difícilmente en otras especies. Es de considerarse que los estudios hasta ahora hechos en animales convencionales de laboratorio (conejo, rata, cobayo, hamster, etc.) han sido de enorme trascendencia, pero que deben buscarse nuevos modelos para ampliar los datos conocidos o -- bien buscar otros fenómenos que no se presentan en los animales hasta ahora usados debido, principalmente a -- las limitaciones genéticas, fisiológicas y bioquímicas propias de cada especie.

RESUMEN

El presente estudio se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Investigaciones Inmunológicas, S.S.A. Se -- obtuvieron 22 armadillos Dasypus novemcinctus silvestres-- provenientes de los estados de Sinaloa y de México, atrapa-- dos en los meses de enero y febrero de 1982. Con el propó-- sito de estudiar la flora normal bacteriana aerobia en la-- cavidad oronasofaríngea y el intestino grueso para obtener una mayor información de las posibles enfermedades infec-- ciosas que atacan a estos animales en cautiverio y así de-- terminar la forma correcta del manejo de los armadillos pa-- ra los estudios que se hacen con el Mycobacterium leprae - que no crece o lo hace muy difícilmente en otras especies.

Las muestras de los exudados nasales, faríngeos y copro-- cultivos se tomaron con hisopos estériles, raspando la zo-- na deseada de cada uno de los animales, se procuró que la-- muestra fuera representativa de la flora presente.

Para la identificación de las bacterias se tomaron ca-- racterísticas de la morfología colonial, microscópica y -- tintoreal mediante la técnica de Gram, y para la determina-- ción de especies se utilizaron pruebas bioquímicas. En los exudados nasal y faríngeo se lograron aislar Klebsiella sp, Proteus, Escherichia coli y en los coprocultivos se aisla-- ron: E. coli, Citrobacter freundii, Klebsiella sp, Enterobacter, Proteus. Mediante este estudio se pudo comprobar - que tomando las debidas precauciones en el manejo y alimen-- tación de estos animales es posible mantener a los armadi-- llos como animales de experimentación.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Buchanan, R.E y Gibbons, N.E. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8a Ed. The Williams y Wilkins Co. Baltimore, E.V.A. pag. 485.
- 2.- Carter, G.R. 1979. Miscellaneous Pathogenic and Non pathogenic Bacteria. En: Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Micology. 3a Ed. Charles C. Thomas Publisher. Spingfield, Illinois. --- U.S.A. p. 223-232.
- 3.- Cravioto A. Enfermedad diarreica causada por Escherichia coli; Instituto Nacional de Ciencias y Tecnología de la Salud del Niño. D.I.F. Monografía que forma parte de una seie de Publicaciones Científicas de la Dirección de Servicios Médicos. p. 13-27, 1980.
- 4.- Cuba-Caparó, A., R.A. Lombardo, R, Lord and Zampini. 1977. Some biological characterics of the seven-banded armadillo Dasypus hybridus. Its maintenance and reproduction in captivity. Workshop on - the armadillo: an animal model for research. Caracas, Venezuela. pag. 23-27.
- 5.- Edwards, P.R. y Ewing, W.H. 1972. Identification of Enterobacteriaceae, 3a Ed. Burgess. Pub Co. --- pp. 21-47.

- 6.- Ewing W.H. 1973. Differentiation of Enterobacteriaceae by biochemical reactions, Revised, V.S., Dept. of Health, Education and Welfare, Phs. CDC, U.S.A. pp 14-16.
- 7.- Frazier, W.C. 1976. Microbiología de los Alimentos 3a. Ed. Editorial Acribia, Zaragoza.
- 8.- Gutierrez G., y Kumate J. 1980. Manual de infectología; 7a Ed. Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México.
- 9.- Kirchheimer W.F. Storrs E.E., Binford C.H. 1977. - Attempts to establish the armadillo D. novemcinctus Linn as a model for the study of leprosy I. -- Histopathologic and bacteriologic post mortem findings in lepromatoid leprosy in the armadillo. Int. J. Leprosy, 40: 229-242.
- 10.- Kloos, W.E. y Schleifer, K.H. 1981. The genus Staphylococcus. En: The Prokaryotes, editado por --- Starr, M.P., Stolp, H., Trüper, H.G., Balows, A, y Schlegel, H.G. Springer-Verlag, Berlin, Vol II, -- pp 1548-1569.
- 11.- Leopold, A.S. 1959. Wild life of México, University of California Press, Berkeley and Los Angeles, - pp 338-343.

- 12.- Lord, R. 1977. The capture, care, transportation and distribution of armadillos as animal model -- for health research. Workshop on the armadillo. - Caracas Venezuela.
- 13.- Moreno, R.CH., 1981. Departamento de Virología e - Inmunología. Facultad de Medicina Veterinaria y - Zootecnia, UNAM. Dirección General de Publicaciones. México 20, D.F.
- 14.- Newman, H.H. Patterson J.t. 1910. The development of the nine-banded armadillo from primitive ----- streak to birth, with special reference to the -- question of specific polyembryony, J. Morphol 21: 359-437.
- 15.- Bruner, D.W., and A.B. Moran. 1941. Cornell Vet., 39: 53.
- 16.- Quevedo, F., J. Lasta and B. Martínez: 1977. The armadillo as a reservoir host of Salmonella. (Preliminary communication).
- 17.- Ringuelet, R. 1970. Fauna Latinoamericana. Ed. Noger, Barcelona, pp 50-62.
- 18.- Simpson, G.C. 1945. The principles of classification and a classification of mammals. Bull. American Museum Nat. History, 85: 1-350.

- 19.- Storrs E.E. 1971. The nine-banded armadillo: a model for leprosy and other biomedical research. Int. J. Leprosy, 39: 703-714.
- 20.- Storrs, E.E., and W.E. Geer. 1973. Maintenance -- and care of armadillo colonies. Lab. Anim. Sci, - 23: 823-829.
- 21.- Villa, B. 1952. Mamíferos silvestres del Valle de México. An. Inst. Biol. Méx. 23: 269-492.