



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**BACTERIAS ASOCIADAS AL APARATO
RESPIRATORIO Y AL AREA GENITAL DEL DELFIN
NARIZ DE BOTELLA (*Tursiops truncatus*) EN
CAUTIVERIO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

ROSALIA AVALOS TELLEZ

ASESOR:

DR. FRANCISCO SUAREZ GÜEMES
MVZ ALEJANDRO HERNANDEZ ALARCON



MEXICO, D. F.

2005

m. 347057



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

DEDICATORIA

A mis padres Rosa María Téllez García y Humberto Ávalos Serrano, por darme la oportunidad de estudiar, por toda su confianza, amor y apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A todas las personas y delfines que hicieron posible la realización de este trabajo.

A los parques marinos:
CONVIMAR, SA de CV (Atlantis, Aragón y Ferias III)
Delfiniti de México, SA de CV
Six Flags, SA de CV

A los doctores encargados de los delfines en los parques marinos:
MVZ Alejandro Hernández Alarcón
MVZ Jorge Enrique Guzmán González
MVZ Liliana Aurora Ramos Garduño

A todos mis asesores oficiales y extraoficiales de la tesis:
Dr. Francisco Suárez Güemes
MVZ Alejandro Hernández Alarcón
MVZ Raúl Segura Candelas
MVZ Rigoberto Hernández Castro

A todos los miembros del jurado de mi tesis:
MVZ Rosa Elena Miranda Morales
MVZ Fernando Gual Sill
MVZ Inda Marcela Figueroa Ochoa
MVZ Francisco Galindo Maldonado

A cada uno de mis familiares y amigos cercanos.

A todos mis amigos, compañeros y profesores:
Del Departamento de Microbiología e Inmunología de la FMVZ
De la generación 2000- 2004 de la FMVZ
De la Escuela Mexicana Canadiense de Inglés

A todas las personas que me han inspirado y han sido importantes en mi vida tanto en mi desarrollo profesional como en mi persona, ayudándome siempre a salir adelante.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN	3
1.1 Descripción general de los delfines	3
1.2 Clasificación Taxonómica del delfín nariz de botella	6
1.3 Localización Geográfica del delfín nariz de botella	7
1.4 Anatomía y fisiología reproductiva de la hembra	7
1.5 Anatomía y fisiología reproductiva del macho	9
1.6 Anatomía y fisiología del aparato respiratorio	11
1.7 Situación actual en México del delfín nariz de botella	13
1.8 Microorganismos importantes en el delfín nariz de botella	15
1.8.1 Bacterias	15
1.8.2 Hongos y levaduras	17
1.8.3 Parásitos	18
1.8.4 Virus	19
1.9 Microbiota normal	20
1.10 Justificación	22
1.11 Hipótesis	23
1.12 Objetivo general	23
II. MATERIAL Y MÉTODOS	23
2.1 Animales	23
2.2 Instalaciones	24
2.3 Muestras	26
2.3.1 Obtención de la muestra del aparato respiratorio	26
2.3.2 Obtención de la muestra vaginal o prepucial	27
2.4 Procedimiento bacteriológico	28
III. RESULTADOS	29
3.0 Aislamientos totales	29
3.1 Aislamientos del aparato respiratorio	33
3.2 Aislamientos de vagina	34
3.3 Aislamientos del prepucio	36
IV. DISCUSIÓN	37
4.1 Aparato respiratorio	37
4.2 Área genital	40
4.3 Conclusiones	42
V. REFERENCIAS	43

INDICE DE FIGURAS Y CUADROS

VI. FIGURAS	Página
Figura 1. Diferencias externas entre el macho y la hembra del delfín nariz de botella.	7
Figura 2. Aparato reproductor de la hembra delfín nariz de botella.	9
Figura 3. Aparato reproductor del macho delfín nariz de botella.	10
Figura 4. Esquema del aparato respiratorio en el delfín nariz de botella.	11
Figura 5. Obtención de la muestra del aparato respiratorio.	26
Figura 6. Obtención de la muestra vaginal o prepucial.	27
Figura 7. Grafica de porcentajes del número de aislamientos de las bacterias del aparato respiratorio y el área genital del delfín nariz de botella.	30
Figura 8. Porcentajes de los géneros bacterianos aislados con mayor frecuencia en el aparato respiratorio y el área genital del delfín nariz de botella.	30
Figura 9. Porcentajes de los aislamientos realizados en el aparato respiratorio.	33
Figura 10. Porcentaje de las bacterias aisladas en la mucosa vaginal.	35
Figura 11. Porcentaje de las bacterias aisladas en la mucosa prepucial.	36

VII. CUADROS

Cuadro 1. Datos de los delfines nariz de botella utilizados en este estudio.	25
Cuadro 2. Bacterias aisladas en el aparato respiratorio y al área genital de los delfines.	32
Cuadro 3. Total de bacterias y levaduras aisladas del aparato respiratorio del delfín nariz de botella.	34
Cuadro 4. Total de bacterias aisladas de la mucosa vaginal del delfín nariz de botella.	35
Cuadro 5. Total de bacterias aisladas de la mucosa prepucial del delfín nariz de botella.	36

RESUMEN

AVALOS TÉLLEZ ROSALÍA. Bacterias asociadas al aparato respiratorio y al área genital del delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*) en cautiverio (bajo la dirección de: MVZ, Dr. Francisco Suárez Güemes y MVZ Alejandro Hernández Alarcón)

Las infecciones bacterianas juegan un papel muy importante en la morbilidad y mortalidad de los delfines nariz de botella. Se ha observado que el confinamiento de mamíferos marinos en acuarios ha predisuesto a diversas enfermedades, por ejemplo, en los cetáceos se presenta una alta incidencia en enfermedades respiratorias de origen bacteriano y se ha reportado a la neumonía como una de las principales causas de muerte.¹

Debido a que existen escasos reportes acerca de la microbiota normal en el delfín nariz de botella, no ha sido posible determinar con exactitud la posible patogenicidad y potencial zoonótico; por lo que el objetivo de este proyecto fue identificar las bacterias presentes en el aparato respiratorio y el área genital de los delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*) clínicamente sanos en cautiverio; así también pretende proporcionar un precedente para futuras investigaciones de esta índole, lo que permitirá un mayor conocimiento de la microbiota normal y aquella potencialmente patógena para los delfines y para el personal que labora con ellos, así como un mejor manejo de estos cetáceos en cautiverio.

Un total de 31 muestras fueron procesadas para determinar el tipo y frecuencia de las bacterias aerobias y microaerofílicas del aparato respiratorio y el área genital de 17 delfines nariz de botella *Tursiops truncatus* clínicamente sanos, provenientes de los parques marinos de Delfiniti de México, SA de CV; Six Flags, SA de CV y de la empresa CONVIMAR, SA de CV (Atlantis, Aragón y Ferias III); por cada delfín se utilizaron dos bolsas estériles (Wirl-pack) y dos hisopos estériles por cada región anatómica muestreada; todas las muestras se colocaron en un medio de transporte (AMIE'S con carbón activado), se transportaron en refrigeración a una temperatura de 4°C. Todas las muestras fueron llevadas al laboratorio del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, donde se inició el proceso de aislamiento e identificación en un máximo de 24 horas.

Se obtuvieron 17 muestras del aparato respiratorio, 8 muestras de la mucosa prepucial y 6 muestras de la mucosa vaginal. En total se obtuvieron 77 aislamientos bacterianos y 3 aislamientos de levaduras, los cuales fueron identificados por procedimientos microbiológicos y bioquímicos.

Del aparato respiratorio se realizaron 41 aislamientos bacterianos y 3 de levaduras, de los cuales 27 (61%) fueron Gram positivos, 14 (32%) fueron Gram negativos y 3 (7%) fueron levaduras. Los géneros bacterianos aislados fueron: *Staphylococcus*, *Pasteurella*, *Corynebacterium*, *Actynomices*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Arcanobacterium*, *Klebsiella*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Citrobacter* y en las levaduras a *Candida albicans*. Los géneros aislados con mayor frecuencia fueron: *Staphylococcus* (47%), *Pasteurella* (16%), *Corynebacterium* (7%) y *Candida* (7%).

De la mucosa vaginal se obtuvieron 18 aislamientos bacterianos, de los cuales 10 (56%) fueron Gram positivos y 8 (44%) fueron Gram negativos. Los géneros bacterianos aislados fueron: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Yersinia*, *Morganella*, *Arcanobacterium*, *Proteus*, *Escherichia*, *Corynebacterium*, *Actynomices*, y *Pasteurella*. Los géneros aislados con mayor frecuencia fueron: *Staphylococcus* (28%), *Yersinia* (11%), *Proteus* (11%), *Escherichia* (11%) y *Actynomices* (11%).

De la mucosa prepucial se realizaron 16 aislamientos bacterianos de los cuales 10 (63%) fueron Gram positivos y 6 (37%) fueron Gram negativos. Los géneros bacterianos aislados fueron: *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Arcanobacterium*, *Morganella*, *Pasteurella*, *Actynomices*, *Proteus* y *Yersinia*. Los géneros bacterianos aislados con mayor frecuencia fueron: *Staphylococcus* (25%), *Actynomices* (25%), *Morganella* (12.5%) y *Pasteurella* (12.5%).

Estos resultados muestran la presencia de diversos microorganismos en el área genital y el aparato respiratorio del delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*) clínicamente sanos, por lo que éstos microorganismos pueden ser considerados como parte de la microbiota normal y convertirse en patógenos oportunistas cuando el animal está inmunodeprimido.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Descripción general de los delfines

Los cetáceos son el grupo de mamíferos marinos más diverso y antiguo, con evidencia fósil que data de unos 40 a 52 millones de años. Los datos aportados por análisis de fósiles, así como estudios bioquímicos indican que los cetáceos comparten un antecesor común con los ungulados el *Mesonychidae*, que ocupó las planicies de lo que ahora es África en el Eoceno Temprano.²

En 1979, se encontró un cráneo fosilizado de un mamífero del tamaño de un perro. Se conjeturó que podría tratarse del grupo más antiguo de los cetáceos, los primitivos arqueocetos. Este fósil, denominado *Pakicetus inachus*, se considera el cetáceo más antiguo, con aproximadamente 50 000 000 de años, correspondiente al periodo Eoceno, depositado en los primeros tiempos de la evolución de los mamíferos modernos. Estos arqueocetos tenían la cabeza larga y estrecha, casi como un cocodrilo y las mandíbulas como pinzas, dotadas de dientes piramidales, a menudo aserrados; una única rama de estos cetáceos antiguos, el de los dorudontinos, se extendió por todos los océanos del mundo. El enriquecimiento inicial de los océanos marca el comienzo de una gran época de experimentación evolutiva entre los cetáceos en el periodo oligoceno, la historia de una nueva rama de cetáceos, los odontocetos, o cetáceos con dientes.²

Los cetáceos comprenden aproximadamente 80 especies diferentes de ballenas, delfines y marsopas, con tamaños que varían desde un metro hasta los 30 metros de longitud, incluyendo a los animales más grandes del mundo (las ballenas azules). Son mamíferos exclusivamente acuáticos que viven principalmente en los océanos y algunas especies de delfines habitan ríos y lagos de Sudamérica y Asia.³

Los delfines se caracterizan por tener un cuerpo fusiforme o hidrodinámico. Sus extremidades anteriores se transformaron en aletas pectorales (estabilizadores), desaparecieron sus miembros posteriores y se sumaron una aleta dorsal y una caudal, ambas con soporte fibrocartilaginoso. La aleta caudal es horizontal (a diferencia de los peces que la tienen en posición vertical), con dos lóbulos laterales iguales, es la responsable de la propulsión por medio de movimientos hacia arriba y abajo. Los cetáceos actuales en general no tienen pelos en su cuerpo, aunque este puede aparecer como bigotes o vibrisas. Estos animales poseen una gruesa capa de grasa subcutánea que los protege del frío y actúa como reserva de energía.³

Debido a que su respiración es pulmonar, el delfín inhala aire fuera del agua, por el orificio nasal, el cual está ubicado en la parte superior de la cabeza y dan lugar al respiradero, espiráculo o respiráculo. Los órganos de los sentidos también sufrieron modificaciones para funcionar en el medio acuático. Sus ojos le permiten ver a corta distancia en el agua y a larga distancia en el aire. De todos los sentidos el que más se ha modificado es el oído, el cual quedó reducido a un pequeño orificio detrás del ojo, seguido por un corto canal auditivo.⁴ La emisión de los sonidos se originan dentro de la cabeza del delfín, por el pasaje forzado de aire a través de los sacos nasales vestibulares, los labios internos y externos del espiráculo, son transmitidos en una dirección por medio del melón hacia el objeto determinado. La recepción se origina cuando los sonidos emitidos chocan con el objeto determinado y regresan en forma de eco, son percibidos por los costados de la cabeza y la cavidad de su mandíbula inferior y es transmitido por el tejido graso hacia la bulla timpánica, de ahí pasa al oído interno y luego al cerebro. De esta manera el delfín percibe la distancia, tamaño, forma, textura y densidad de los objetos, a este sistema de emisión recepción se le denomina ecolocalización.⁵

Otras adaptaciones morfológicas en los cetáceos, es la posibilidad de inmersión durante largos períodos de tiempo, alcanzando profundidades considerables, se debe a las características especiales que poseen estos animales para almacenar oxígeno en diversas partes del cuerpo; así los músculos pueden albergar de un 40 a un 50% gracias a la mioglobina presente en concentraciones particularmente altas en el tejido muscular; se

almacena también oxígeno en la sangre, en una proporción del 40%; el restante 10% está en los pulmones. Otros motivos que permiten a estos animales realizar estas largas inmersiones, es una disminución en la tasa de consumo de oxígeno, hasta un 30% menor que en condiciones normales; también influye en gran medida, la alta eficiencia que poseen a la hora del intercambio gaseoso en los pulmones. En un mamífero terrestre, solamente se elimina un 20% de los gases contenidos en los alvéolos pulmonares, mientras que en los cetáceos, en cada expiración, eliminan el 90% del contenido gaseoso, de manera que con pocos actos respiratorios, eliminan la totalidad del anhídrido carbónico (CO₂), debido a que los cetáceos poseen 2 capas de capilares que facilitan el intercambio gaseoso a diferencia de otros mamíferos que solo tienen una capa.^{4, 5}

La historia de los delfines en cautiverio se divide en 2 etapas; la etapa antigua, que comienza en el año de 1853, en el museo de Barnum en Nueva York, en donde se exhibieron algunos delfines; en 1870, en el acuario de Brighton se hicieron exhibiciones en los acuarios de Westminster en Manchester y Blackpool Inglaterra, donde no se obtuvo mucho éxito, debido a que los delfines murieron en poco tiempo. La segunda etapa es la moderna que se inicia en 1938, con el establecimiento del acuario de Florida, estas instalaciones se planearon para la realización de películas, donde se dio importancia a la realización de técnicas adecuadas de captura, transporte, manejo físico y químico de los animales y el tratamiento del agua; estas bases propiciaron un mayor conocimiento del manejo de estos animales en cautiverio y actualmente se estima una población de delfines en cautiverio de 3000 ejemplares a nivel mundial.⁵

Si no se tuviera delfines en cautiverio se limitarían las investigaciones y estaríamos lejos del conocimiento general de estos animales, ya que en estado salvaje los estudios son más limitados y costosos. Se tiene la necesidad de llevar a cabo investigaciones y establecer programas reproductivos en cautiverio para obtener una crianza exitosa, sin tener que recurrir a la captura en vida libre.⁵

1.2 Clasificación Taxonómica del delfín nariz de botella

Reino:	Animal
Filo:	Cordados
Subfilo:	Vertebrados
Clase:	Mamíferos
Orden:	Cetácea
Suborden:	Odontoceti
Familia:	<i>Delphinidae</i>
Género:	<i>Tursiops</i>
Especie:	<i>truncatus</i>
Nombre común:	Delfín nariz de botella, tursiones, delfín mular, tonina, bufeo.
Nombre científico:	<i>Tursiops truncatus</i> , del latín turbio que significa cara y truncare “cortada”. ^{5, 6}

Orden Cetácea.- es a su vez dividida en 3 subórdenes:

1. Odontocetos, en este grupo pertenecen los delfines, marsopas, belugas, ballenas dentadas, se caracterizan por presentar dentición homogénea; a su vez este grupo se divide en 9 familias donde se encuentra la familia *Delphinidae*, la cual esta conformada por 17 géneros y 32 especies, donde pertenece el *Tursiops truncatus*.
2. Mysticetos, está conformado por las ballenas azules, ballenas grises, ballenas jorobadas, su característica principal es la presencia de una placa o láminas córneas en lugar de dientes.
3. Archeocetos, grupo extinto de ballenas donde solo quedan fósiles.⁴

El orden Cetácea, se encuentra representado en México con 37 especies (cerca del 50% del total mundial), los cuales el 78% son odontocetos y el 22% son mysticetos.⁷

1.3 Localización Geográfica del delfín nariz de botella

El delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*) habita en aguas templadas y tropicales en todo el mundo. En el Océano Pacífico se distribuye desde Japón, Australia, sur de los Estados Unidos, Islas de Hawai, México y Sudamérica. En el Océano Atlántico habita desde el norte de Escocia y Noruega, en el Golfo de México y el Caribe, habita también en el mar Mediterráneo, en el Océano Indico hasta el sur de África.⁵

1.4 Anatomía y fisiología reproductiva de la hembra

La única diferencia visible entre ambos sexos es la distancia que hay entre el ano y el pliegue genital, en la hembra el ano y el pliegue genital parecen estar unidos, incluso las glándulas mamarias de la hembra, son difíciles de distinguir.³ Las hembras son reconocibles exteriormente por la presencia de dos aberturas longitudinales en el abdomen, que llevan dentro las glándulas mamarias. Estas glándulas se sitúan a ambos lados de la abertura genital, delante del ano.⁴ Los pezones de la hembra, uno a cada lado del pliegue genital, quedan dentro de un pequeño pliegue mamario (Fig. 1).

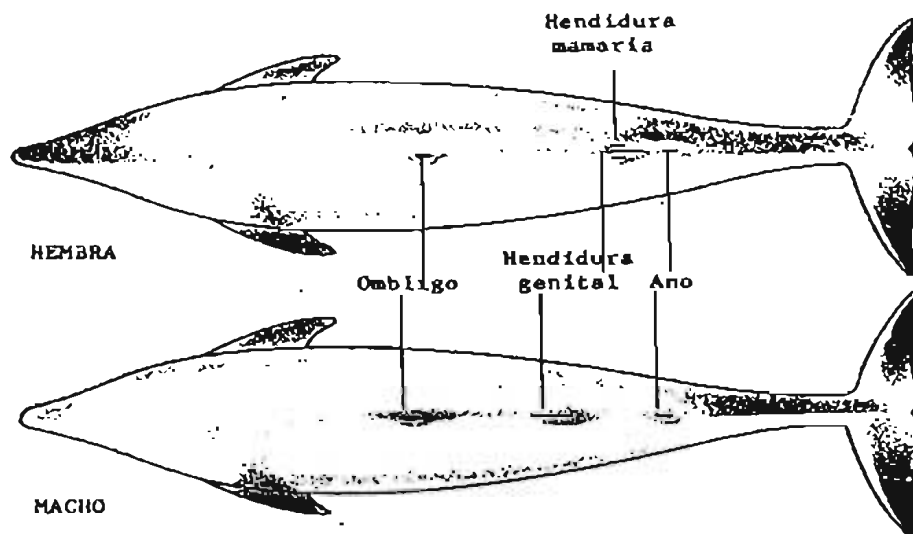


Figura 1. Diferencias externas entre el macho y la hembra del delfín nariz de botella.⁶

Los órganos reproductivos externos de la hembra consiste en una vulva en forma de hendidura, con los labios mayor y menor; presenta un clítoris el cual se proyecta posteriormente dentro de la hendidura genital con un cuerpo cavernoso, los músculos que se localizan ahí son el isquiocavernoso, esfínter vaginal y retractor del clítoris.

Existe un orificio vaginal, donde encontramos a la vagina, la cual se expande en su diámetro de 3 a 4 veces el tamaño del orificio. La superficie de la pared vaginal tiene surcos longitudinales y pliegues circulares, siendo estos más prominentes en la parte anterior y los surcos más prominentes en la parte posterior.⁸

Existe un pseudocérvix que es un gran pliegue de 2 a 3 cm en la parte anterior de la vagina, su abertura es aplanada y posee una cavidad o descanso espermatecal, formado por la pared posterior del pseudocérvix y la cara anterior del cérvix verdadero, aquí se puede mantener de 6 a 10 ml de semen en una hembra adulta. Todas estas características ayudan para prevenir el lavado de semen en la vagina por agua de mar después de la cópula.

El útero es bicornio con cuerpo corto y cuernos uterinos largos que pasan cranealmente por aproximadamente la mitad de su longitud antes de voltearse lateralmente al cuerpo del útero.

Los ovarios son esféricos y elongados en su forma y lisos en su superficie, los ovarios inmaduros tienen una forma plana y elongada con ranuras en su superficie, cuando los ovarios maduran tienen forma de racimo de uvas; se localizan inmediatamente posterior y lateralmente a los riñones, fijados por un amplio ligamento. Cada ovario es cubierto parcialmente por un infundíbulo grande y bien desarrollado, que se contenía con el corto y robusto tubo uterino.⁸ El oviducto es fino y largo y el útero bicornio, con el cuerno izquierdo más desarrollado que el derecho, debido a que es el único funcional en la mayoría de los casos. La vagina es larga, cilíndrica y en ella desemboca directamente, en amplio agujero, el útero. La cavidad vulvar es larga, amplia e interna.¹ (Fig. 2).

Aparato reproductor de la hembra

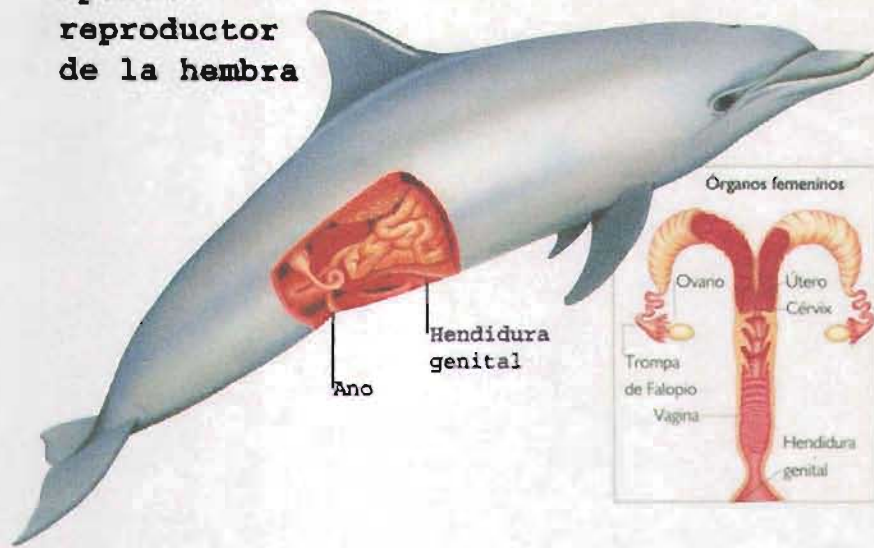


Figura 2. Aparato reproductor de la hembra delfín nariz de botella.⁹

1.5 Anatomía y fisiología reproductiva del macho

Los testículos se encuentran fijos en la pared dorsal de la cavidad abdominal lateral y caudalmente a los riñones, son de forma cilíndrica y elongados, están envueltos por la túnica vaginal y la túnica albugínea, que también cubre al epidídimo. Su volumen varía con la edad y la actividad sexual. Existen numerosos y pequeños canales dando origen al conducto eferente que se introduce en el epidídimo, el cual posee una cabeza, cuerpo y cola; distalmente la cola crece para convertirse en el conducto deferente. La glándula accesoria que poseen es la prostática que rodea el canal urogenital y esta protegida por una capa gruesa de músculo.⁸

El pene es fibroelástico, contiene una gran cantidad de tejido fibroso duro, se encuentra constituido por 3 capas, la capa exterior formada por una piel dura y gruesa; la capa media formada por un tejido conjuntivo y la capa interna que contiene fibras elásticas.

De la región pélvica el pene corre anteriormente, con su parte distal proyectándose dentro del saco peneal. La piel que recubre el saco peneal se refleja hacia delante para cubrir el primer tercio anterior del pene, esta parte distal es llamada como terminal; cuando el pene está erecto, el recubrimiento invaginado del saco peneal es estirado hacia afuera para cubrir el tercio medio del pene.⁸ El pene relajado forma una curvatura en forma de "S", que es mantenida por sus músculos retractores, que se originan en la parte rectal anterior y se insertan en la porción ventral del pene, sobresale al exterior en estado de erección durante el acto sexual o después de la muerte comunicándose con el exterior por una abertura. En el caso del macho los pliegues anales y genitales están separados.⁸ (Fig. 3).

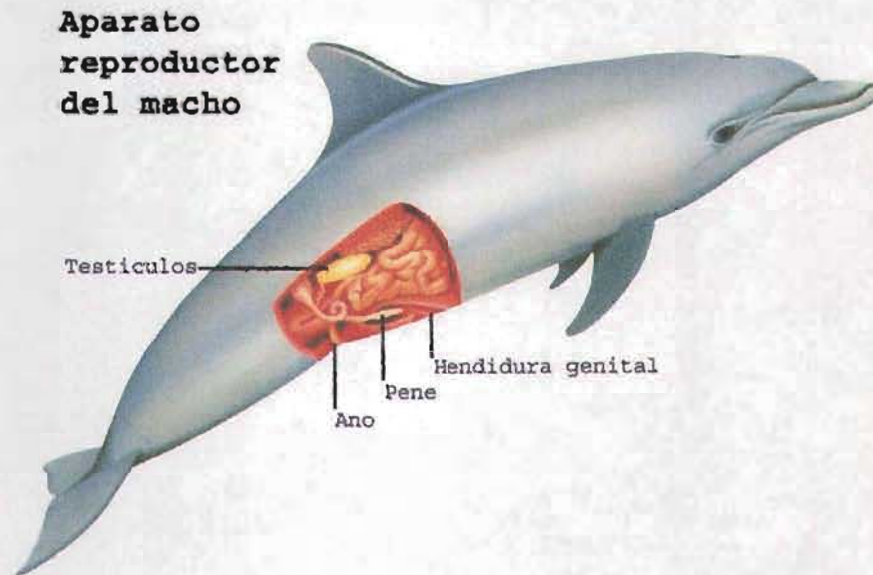


Figura 3. Aparato reproductor del macho delfín nariz de botella.⁹

1.6 Anatomía y fisiología del aparato respiratorio

Los delfines respiran por una abertura llamada espiráculo, el cual puede abrirse y cerrarse voluntariamente, está localizado en una posición alta en la cabeza, esta formado por una membrana fibrosa y esta constituido por un tubo que es un sistema intrincado de sacos ciegos, los cuales están involucrados con la comunicación y con la ecolocación, se continua con la laringe la cual presenta unos poderos músculos que se abren y cierran para permitir la entrada de agua a los pulmones, los cuales se extienden del espiráculo hasta la traquea, la laringe atraviesa verticalmente al esófago, debido a que este se bifurca. Por medio de este espiráculo, los cetáceos expulsan los gases contenidos en el interior de sus pulmones, los cuales, al pasar a un medio más frío, se condensan formando el característico chorro o surtidor, que resulta especialmente visible en los grandes cetáceos.⁴ (Figura 4)

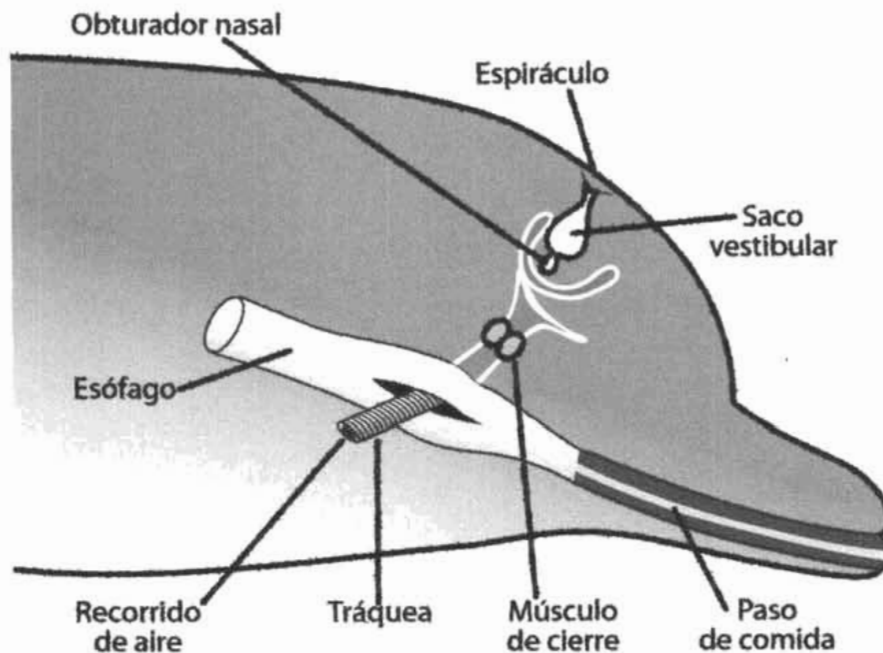


Figura 4. Esquema del aparato respiratorio en el delfín nariz de botella.^{5,6}

Los cartílagos epiglóticos y aritenoides son elongados y forman un tubo proyectado anterior y superiormente desde el paso de la faringe. La tráquea es corta, fuerte y con anillos completos, los pulmones son elongados, no lobulados, situados dorsalmente en el tórax, tienen una pleura más elástica y gruesa, el parénquima pulmonar está reforzado con válvulas mioelásticas, esfínteres musculares y anillos cartilagosos cubiertos con una doble capa alveolar permitiendo un eficiente intercambio de aire y dando una mayor resistencia para contrarrestar y soportar la presión.⁵

En los bronquios se ve desde una estructura fibrosa hasta ramificaciones de calibre relativamente pequeño a lo largo del árbol bronquial, en los bronquiolos se encuentran una válvulas mioelásticas las cuales se abren y se cierran para capturar oxígeno, la estructura especialmente elástica del pulmón y la extensa ramificación capilar arteriovenosa en torno a los alvéolos hacen que casi el 90% del oxígeno inspirado llegue a oxigenar la sangre.

El periodo de apnea en los delfines es aproximadamente de 10 minutos y es capaz de alcanzar 150 m de profundidad en solo algunos minutos y salir a la superficie a gran velocidad y volverse a sumergir sin sufrir trastorno alguno debido a algunas adaptaciones al buceo que son.

- ◆ Una redistribución del volumen sanguíneo a través de los sistemas porta que funcionan como reservorios de sangre.
- ◆ Alta cantidad de mioglobina en los músculos, favoreciendo el trabajo muscular durante la inmersión con reducida reoxigenación.
- ◆ Alta capacidad de los músculos para soportar elevadas concentraciones de ácido láctico, presente durante la inmersión por oxigenación anaerobia.
- ◆ Anillos traqueales completos que impiden que la tráquea se colapse.
- ◆ Una bradicardia en las inmersiones profundas, la cual le permite que el flujo sanguíneo se distribuya únicamente a órganos vitales.⁵

1.7 Situación actual en México del delfín nariz de botella

La mayoría de los *Tursiops* se capturan con fines de exhibición e investigación son del este de Florida, del Golfo de México, del sur de California, así como de Hawái, Sudáfrica, Japón, México, las Filipinas, las Bahamas y del Mediterráneo.⁶

La preocupación por la conservación de los cetáceos en México también se ve reflejada en las normas oficiales mexicanas. Las normas y leyes que están relacionadas con la protección del delfín nariz de botella en México son:

1) NOM-EM-PESC-2001, establece los lineamientos para la captura incidental de organismos juveniles de atún y delfines.⁷

2) NOM-ECOL-059-2001, establece la categoría de riesgo de las especies de flora y fauna de México; donde incluye al *Tursiops truncatus* en la clasificación de protección especial, donde se encuentra en la categoría Pr, que se refiere a aquellas especies o poblaciones que podrían llegar a encontrarse amenazadas por factores que inciden negativamente en su viabilidad, por lo que se determina la necesidad de propiciar su recuperación y conservación o la recuperación y conservación de poblaciones de especies asociadas. Su distribución la menciona como: no endémica, con lo cual se refiere a aquella cuyo ámbito de distribución natural no se encuentra circunscrito únicamente al Territorio Nacional y las zonas donde la Nación ejerce su soberanía y jurisdicción.¹⁰

3) NOM-EM-135-Semarnat-2004, establece los lineamientos de regulación para la captura, transporte, manejo y condiciones de cautiverio de mamíferos marinos, principalmente delfines.¹¹

4) NOM-ECOL-136-2002, especifica las regulaciones existentes para los mamíferos marinos en cautiverio.⁷

5) Ley General de Vida Silvestre Artículo 60 bis, establece que ningún ejemplar de mamífero marino, cualquiera que sea la especie podrá ser sujeto de aprovechamiento extractivo, ya sea de subsistencia o comercial, con excepción de la captura que tenga por objeto la investigación científica y la educación superior de instituciones acreditadas.¹⁰ El solicitante necesita una autorización para la captura de mamíferos marinos a los que se refiere este artículo, deberá entregar a la autoridad correspondiente un protocolo completo que sustente su solicitud. El resto del trámite quedará sujeto a las disposiciones de la presente Ley y demás ordenamientos aplicables.¹²

6) Norma Oficial Mexicana 012-PESC-1993, especifica la veda total e indefinida en aguas de jurisdicción Federal del Golfo de California, para la captura de diversas especies de fauna marina, entre las que se encuentran al delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*), vaquita marina (*Phocoena sinus*), delfín común (*Delphinus delphis*), ballena piloto (*Giobicephala macrorhynchus*), ballena de esperma (*Physeter catodon*), ballena de aleta (*Balaenoptera physalus*), ballena azul (*Balaenoptera musculus*), ballena gris (*Eschrichtius robustus*), ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*), lobo marino (*Zalophus californianus*) y al pez totoaba (*Cynoscion macdonaldi*), debido a que esta norma establece medidas para la protección de las especies de Totoaba y Vaquita en aguas de jurisdicción federal del Golfo de California.¹²

1.8 Microorganismos importantes en el delfín nariz de botella

1.8.1 Bacterias:

Los cetáceos tienen una alta susceptibilidad a las enfermedades respiratorias de origen bacteriano, se ha observado a la neumonía como la principal causa de muerte.¹

Existen reportes de microorganismos causantes de neumonía como *Aerobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. hemolítico, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*; los signos que se presentan son depresión, halitosis, disnea.^{13, 14,}
¹⁵ *Pseudomonas aeruginosa*, ha sido reportada también como causante de osteomielitis, septicemias, dermatitis, necrosis y ulceración de la piel, problemas respiratorios y depresión. Es considerado como un patógeno oportunista.¹

- ✓ *Staphylococcus aureus*. Ha sido implicado como uno de los causantes de neumonía en delfines en cautiverio, se ha aislado en septicemias en las cuales se ha observado nefritis, abscesos cerebrales y lesiones cutáneas. Es considerado parte de la microbiota normal del espiráculo en los delfines.¹⁶
- ✓ *Pasteurella* spp. Bacilo Gram negativo, agente causal de la pasteurelosis, que se observa como una bronconeumonía hemorrágica, así también se ha aislado a *Pasteurella multocida* como causante de enteritis y a *Mannheimia haemolytica* como causante de traqueitis hemorrágica.¹
- ✓ *Aeromonas* spp. Comprende un grupo de microorganismos distribuidos en el ambiente acuático. *Aeromonas hydrophila* ha sido reportado como causante de dermatitis ulcerativa y neumonía, se ha aislado del sistema tegumentario, hígado, pulmón, bazo, riñón y sangre del corazón del delfín nariz de botella;^{15, 17} es además un agente causal en una gran variedad de enfermedades sistémicas localizadas en los peces; por lo que su presencia en el delfín nariz de botella puede estar influenciada al medio acuático en el que viven y a que los peces son la parte principal de su alimentación.¹⁸

- ✓ ***Nocardia asteroides* y *N. brasiliensis*.** Bacterias filamentosas Gram positivas, aisladas como causantes de nocardiosis, han sido descritas en nueve especies de cetáceos, ocasionan enfermedad pulmonar y cutánea. *Nocardia asteroides*, además ha sido asociada con necrosis y linfadenitis piogranulomatosa, pleuritis, encefalitis y mastitis. *Nocardia paraguayensis*, agente causal de micetoma, los signos clínicos son lesiones ulcerativas en cavidad oral y en el hocico del animal.¹⁹

- ✓ ***Vibrio* spp.** Ha sido reportado como agente causal de la vibriosis en delfines, la cual se puede dar por la contaminación de heridas, la muerte se ha reportado por causa de una septicemia. Las especies que podemos encontrar son: *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. fluviales*, *V. parahemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. damsela*.¹³

- ✓ ***Erysipelothrix rhusiopathiae*.** Bacilo pleomórfico Gram positivo, agente causal de la enfermedad erisipela, la cual se ha observado en cetáceos en cautiverio por la ingestión de pescado contaminado con este microorganismo. Se tiene dos presentaciones de esta enfermedad; la septicémica que frecuentemente resulta con la muerte del animal, debido a que es súbita y no presenta signos específicos, la forma dermatológica caracterizada por placas en la piel en forma de rombos grisáceos en el tronco dorsal, en el hocico y sobre el melón; además de presentar anorexia, debilidad y excremento de color negro. El organismo puede ser aislado de los linfonodos, pulmón e hígado. En la forma septicémica podemos observar a la necropsia, ascitis, petequias intestinales multifocales, esquimosis, hemorragias, esplenomegalia y lesiones en piel. Existen bacterinas, las cuales han tenido excelentes resultados en el control de la enfermedad. La inmunización de los delfines con bacterinas activas e inactivas son frecuentemente utilizada sin reacciones adversas, excepto en dos casos, donde se utilizaron bacterinas activas y causaron la muerte de los animales.^{14, 16, 20, 21}

- ✓ ***Clostridium perfringens***. Agente causal de clostridiasis, enfermedad que se origina por lesiones en la piel, causando una miositis, produce una muerte repentina; se ha aislado en el músculo dorsal, sangre, ventrículo izquierdo del corazón, fluido torácico y fluido abdominal.²² Existen bacterinas que se utilizan para la inmunización de los delfines contra este microorganismo si es zona endémica y se repite cada 6 meses.⁶

- ✓ ***Brucella spp.*** Ha sido identificado en muchas especies de mamíferos marinos. Este organismo ha sido aislado del delfín nariz de botella de un aborto en cautiverio, en lesiones cutáneas, neumonía, en los ganglios linfáticos e hígado, ocasionando en éstos órganos una inflamación granulomatosa multifocal.^{1, 15, 23}

1.8.2 Hongos y levaduras

Los hongos y las levaduras son usualmente oportunistas o invasores secundarios; estos microorganismos son un riesgo en la salud de los animales que están inmunodeprimidos.

- ***Aspergillus, Candida y Blastomyces***. Estos géneros se encuentran con relativa frecuencia en los delfines con micosis sistémicas, se caracterizan por afectar el sistema respiratorio inferior, manifestándose en nódulos pulmonares que se observan en las placas radiográficas.¹⁴

- ***Candida albicans***. Microorganismo considerado como patógeno. Agente causal de candidiasis cutánea, está enfermedad puede ser generalizada, pero se manifiesta principalmente alrededor de las heridas, asociada en las uniones mucocutáneas, el espiráculo y la vagina. En adición a los signos cutáneos, frecuentemente también se muestra en el esófago y en el área gástrica, con signos como la regurgitación, el vómito y el sacudimiento de la cabeza.¹⁴ La lesión patognomónica es la ulceración del esófago. La enfermedad clínica se asocia después del tratamiento con antibióticos, después del tratamiento al agua, cuando el animal está inmunodeprimido o la conjunción de todas las anteriores. Los factores predisponentes son la contaminación fecal y desechos orgánicos del alimento.¹³

- ***Loboa lobo***. Agente causal de lobomicosis, enfermedad fungal que se presenta como una dermatitis crónica granulomatosa, se ha observado en humanos, en el *Tursiops truncatus* y *Sotalia guianensis*; las lesiones pueden localizarse en cualquier parte del cuerpo del animal, la transmisión es por contacto directo, las lesiones histológicas muestran una acantosis caracterizada por la proliferación de células escamosas.²⁴

1.8.3 Parásitos

- ***Anisakis spp.*** Nematodos de éste género se pueden encontrar en el estómago, su diagnóstico es por inspección fecal, las infecciones no son muy severas y el tratamiento es con antihelmínticos. Cuando los animales son capturados tienen que ser tratados contra estos nematodos, debido que es frecuente encontrar a los delfines de vida libre con este parásito, cuando los delfines están en cautiverio y son alimentados con pescado congelado el desarrollo de parasitismo gastrointestinal es raro.²⁴
- ***Braunina cordiformis***. Trematodo encontrado en el estómago, también adherida a la mucosa podemos encontrar a *Campula rochebruni* en el conducto hepático y pancreático, causando obstrucción. El diagnóstico se hace por la determinación de la presencia de huevos en las heces.²⁴
- ***Nasitrema spp.*** Ocasiona infección parasitaria en los senos paranasales, causa inflamación, mal olor, predispone a infecciones bacterianas que afectan el tracto respiratorio, puede migrar hacia el cerebro.²⁴ Las formas adultas de *Nasitrema* residen en los sacos nasales de los odontocetos y se han observados huevos en el moco nasal. Aunque no se ha resuelto el ciclo vital, se sospecha que las formas larvarias se encuentran en peces hospedadores intermediarios. En algunas ocasiones, formas adultas de *Nasitrema* migran de forma aberrante a través de las paredes de los senos nasales, causan encefalitis y necrosis cerebral. Por ello se ha pensado que *Nasitrema* juega un papel en el varamiento de odontocetos.^{19, 25}

1.8.4 Virus

- **Morbillivirus.** A lo largo de la década pasada, el morbillivirus ha emergido como el patógeno de mayor importancia en los cetáceos en vida libre, existen reportes acerca de la evidencia serológica de la infección por morbillivirus en numerosos cetáceos en el Atlántico, lo cual puede tener un alto impacto en estas especies. Las especies afectadas incluyen al delfín nariz de botella los cuales desarrollan una neumonía severa con múltiples focos de atelectasia y consolidación, los pulmones y los ganglios linfáticos se observan edematosos. En la mayoría de los animales afectados se ha observado una meningoencefalitis no supurativa.¹⁹
- **Poxvirus.** Este virus ha sido identificado morfológicamente en lesiones de piel de numerosas especies de mamíferos incluyendo al delfín nariz de botella. Se manifiesta con lesiones en forma de anillo o agujeros con puntilleo negro en la piel. Estas lesiones aparecen aisladas con un diámetro de 0.5 a 3 cm, son de color gris con bordes oscuros, se observan en la superficie dorsal y en la aleta caudal, las lesiones persisten por meses o años sin signos de enfermedad en el animal, aunque este virus no aparenta causar serios problemas con la salud de los animales, el desarrollo de estas lesiones usualmente coinciden con periodos de inmunodepresión y estrés en los delfines. Cuando las lesiones son supurativas, se debe dar terapia para infecciones secundarias con antibióticos. Este virus ocasiona cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos. Para el diagnóstico, se debe tomar una biopsia donde se incluya tejido normal y de la lesión, ya que por lo general este virus se encuentra en la periferia de la lesión.²⁰
- **Calicivirus.** Existen reportes acerca de 14 serotipos que se han aislado de mamíferos marinos, incluyendo al delfín nariz de botella, la lesión más consistente son las vesículas en la piel, han sido asociadas a lesiones y viejas cicatrices. Estas vesículas pueden tener de diámetro de 1 mm a 3 cm, las lesiones en piel, generalmente se resuelven sin ningún tratamiento. Este virus puede ser aislado de la garganta, de hisopos rectales o de la aspiración del líquido vesicular, colocado en frascos con solución de

fosfato con glicerol (pH 7.2) y congelado. No existen reportes de efectos citopáticos, ni de casos de zoonosis, pero su manejo debe ser con cuidado.²⁰

1.9 Microbiota normal

La microbiota normal es el término que describe a bacterias, protozoarios y hongos que habitan en diferentes regiones anatómicas y que mantiene una estrecha relación con la homeostasis de los animales y del humano. Esta microbiota normal esta adaptada para vivir en el hospedero sin causar daño o enfermedad.

Cada región anatómica crea un ambiente selectivo donde ciertos microorganismos son favorecidos más que otros, por lo que la microbiota normal puede habitar en superficies internas y externas como la cavidad oral, tracto gastrointestinal, respiratorio, genitourinario, mucosa conjuntival y la piel. La microbiota normal es adquirida durante el nacimiento y en el transcurso de la vida del animal, por ingestión o inhalación de microorganismos; esta determinada por factores tales como edad, raza, hormonales, dieta, estrés, comportamiento sexual, medicación, estación del año, localización geográfica, alojamiento, densidad de población, contacto con otros animales o procedimientos de limpieza.^{26, 27, 28}

Los miembros de la microbiota normal varían en número y tipo de un sitio a otro, aunque es extensa en diversas regiones del cuerpo, los órganos internos normalmente son estériles como el bazo, el hígado, el riñón, la vejiga, el cerebro, el corazón, además de el sistema nerviosos central, el músculo, el hueso y la sangre, son libres de microorganismos, pero ocasionalmente llegan a ser colonizados.

Diversas especies de bacterias y hongos viven en los animales, algunas son permanentes y otras temporales.²⁸ La microbiota normal que permanece por un largo periodo de tiempo es llamada residente y es similar entre individuos de la misma especie; la microbiota normal transitoria es aquella que se encuentra en periodos cortos y esta constituida por microorganismos provenientes del ambiente. Algunos de estos microorganismos no son

patógenos en la región anatómica donde habitan, pero pueden llegar a ser patógenos en regiones distintas.²⁹

Entre las funciones de la microbiota normal, se encuentran: la digestión de sustratos metabolizables, producción de vitaminas, desarrollo de las células de la mucosa, estimulación del sistema inmune, regulación del tránsito intestinal y la resistencia a la colonización por la producción de sustancias y péptidos antimicrobiales, competencia por nutrientes, producción de enzimas extracelulares las cuales son inhibitorias o interfieren con el ataque de los patógenos oportunistas.²⁷

El cloro y otros componentes antimicrobianos añadidos al agua, más el tratamiento médico con antimicrobianos, pueden afectar la microbiota normal causando la diseminación de los patógenos, los cuales tendrán una ventaja en la competencia para así establecer infecciones en animales inmunodeprimidos.³⁰

La microbiota bacteriana es frecuentemente desatendida, sin embargo podrían ser estudiadas con la intención de utilizarlas como una protección activa contra enfermedades infecciosas y de este modo contribuir a la reducción del uso de antibióticos en animales y humanos. La resistencia a antibióticos por la microbiota normal está directamente relacionada con el incremento a la resistencia a antibióticos de las bacterias patógenas.^{27, 30}

Cuando se presentan cambios en las condiciones ambientales, fisiológicas, nutricionales o inmunológicas, algunos de los miembros de la microbiota normal pueden volverse oportunistas y causar enfermedad. Debido a la respuesta de los factores que ocasionan el estrés en el animal, cuando éstos son severos o persistentes y el animal no llega a una recuperación o adaptación, provocan un desequilibrio perjudicial en el animal, las consecuencias son variables afectando a nivel metabólico, inmune y reproductivo, entre otros aspectos. Cuando los factores que ocasionan el estrés resulta en una alteración en el funcionamiento del sistema inmune, entonces el animal es vulnerable a enfermedades infecciosas y puede desarrollar una condición patológica. Los mamíferos marinos están sujetos a una serie de eventos que le ocasionan estrés, comenzando desde la captura, la

transportación, la alimentación, el cautiverio, el aislamiento, el ambiente social, la sobrepoblación, instalaciones inadecuadas, ruidos excesivos, etc. Se han llevado a cabo diversos estudios en los delfines nariz de botella para determinar los indicadores del estrés; los hallazgos relacionados con el estrés fueron: neutrofilia, eosinopenia, linfopenia, leucocitosis, hiperglicemia, incremento de cortisol y aldosterona en el suero, incremento en la sedimentación de eritrocitos, hipoferremia, incremento en la osmolaridad de la orina y cambios en la microflora normal del espiráculo.^{31, 32, 33}

Se ha observado también que la microbiota normal puede volverse oportunista cuando se administra tratamiento médico con quimioterapéuticos de amplio espectro.²⁷

Aún cuando existen algunos informes de bacterias patógenas en los delfines en cautiverio, el conocimiento acerca de su microbiota normal es limitado y por lo tanto se desconoce su posible patogenicidad y potencial zoonótico.

1.10 Justificación

Las infecciones bacterianas juegan un papel muy importante en la morbilidad y mortalidad de los delfines nariz de botella *Tursiops truncatus*. Se ha observado que el confinamiento de mamíferos marinos en acuarios ha predisuesto a diversas enfermedades, por ejemplo, en los cetáceos se presenta una alta incidencia en enfermedades respiratorias de origen bacteriano y se ha reportado a la neumonía como una de las principales causas de muerte.¹

Debido a que existen escasos reportes acerca de la microbiota normal en el delfín nariz de botella, no ha sido posible determinar con exactitud la posible patogenicidad y potencial zoonótico; este trabajo pretende proporcionar un precedente para futuras investigaciones de esta índole, lo que permitirá un mayor conocimiento de la microbiota normal y aquella potencialmente patógena para los delfines y para el personal que labora con ellos, así como un mejor manejo de estos cetáceos en cautiverio.

1.11 Hipótesis

El 50% o más de las bacterias asociadas al aparato respiratorio y al área genital de los delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*) clínicamente sanos en cautiverio, están conformadas por bacterias Gram positivas.

1.12 Objetivo general

Identificar las bacterias presentes en el aparato respiratorio y el área genital de los delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*) clínicamente sanos en cautiverio.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Animales

Se utilizaron 17 delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*) clínicamente sanos, provenientes de los parques marinos Delfiniti de México, SA de CV; Six Flags, SA de CV y de la empresa CONVIMAR, SA de CV (Atlantis, Aragón y Ferias III). (Cuadro 1)

Los delfines de las empresas Delfiniti de México y CONVIMAR son *Tursiops truncatus* sub. *truncatus*, los cuales provienen del Atlántico y los delfines de la empresa Six Flags son *Tursiops truncatus* sub. *gilli*, los cuales provienen del Pacífico.

Cada empresa realiza de manera periódica exámenes físicos a sus animales, así como análisis de sangre, análisis bacteriológicos, coproparasitoscópicos, generales de orina, citologías respiratorias, evaluación de la dieta, entre otros, para monitorear a los delfines y así conocer su estado de salud. Es importante señalar que cada delfín posee un expediente clínico, lo que ayuda a tener toda la información relacionada con alguna patología clínica. Antes de realizar el muestreo se realizó una revisión de los expedientes clínicos, donde se tomaron en cuenta los últimos análisis de sangre realizados, para conocer el estado de salud de los delfines y constatar que no estuvieran cursando algún problema infeccioso y por consiguiente un tratamiento con antimicrobianos en por lo menos 3 semanas antes del muestreo. Posteriormente se realizó un examen físico.

La obtención de las muestras de cada delfín se realizó en una sola ocasión, en el periodo de enero a abril del 2005. El manejo de los animales se realizó por condicionamiento operante por lo que no fue necesaria la contención química y tuvo una duración de aproximadamente 10 minutos máximo por animal, con el fin de evitar el mínimo estrés y alguna alteración de sus parámetros fisiológicos.

2.2 Instalaciones

En las instalaciones donde se realizó la obtención de las muestras, se cumple con los lineamientos para el confinamiento de delfines según la Norma Oficial Mexicana NOM-135-SEMARNAT-2004, para la regulación de la captura para investigación, transporte, exhibición, manejo y manutención de mamíferos marinos en cautiverio.

Estas instalaciones cuentan con un sistema de filtro cerrado de arena, el cual permite el reciclamiento y el llenado de la misma. Para la determinación de la calidad del agua en las albercas, se realiza una inspección diaria de valores como pH, salinidad y temperatura, además un análisis microbiológico (potabilidad) cada 15 días.

La calidad del agua de las albercas donde se encuentran los delfines de este proyecto cumplen con lo estipulado en la NOM-135-SEMARNAT-2004, donde se menciona que se deben cumplir con las siguientes características:¹¹

- Potencial de Hidrógeno (pH) entre 6 y 8 unidades.
- Temperatura de 14° a 27° C.
- Salinidad de 18 a 36 partes por mil.

Cada empresa posee albercas de diferentes características, pero siempre manteniendo en cuenta los cuatro factores principales que se requieren por cada delfín nariz de botella.¹¹

1. Diámetro horizontal mínimo de 7.32 metros,
2. Volumen de agua de 21L,
3. Profundidad mínima de 3 metros
4. Superficie total del confinamiento de 10.94 metros.

Cuadro 1. Delfines nariz de botella utilizados en este estudio.

NOMBRE	SEXO	MICROCHIP	EDAD APROX	FECHA DE CAPTURA	PRINCIPAL ACTIVIDAD	UBICACIÓN
1) ISIS	H	AVID*023*847*550	17 años	Mayo de 1993	Espectáculo, delfinoterapia, nado.	Acuario de Aragón
2) HOLBOX	M	AVID*023*784*821	16 años	Junio de 1995	Espectáculo, delfinoterapia, nado.	Acuario de Aragón
3) VAIRON	M	AVID*028*295*803	9 años	Mayo del 2000	Espectáculo.	Ferías III
4) ZEUS	M	AVID*028*590*314	8 años	Mayo del 2000	Espectáculo.	Feria III
5) BAXAL	M	AVID*028*267*819	15 años	Junio de 1995	Espectáculo, delfinoterapia, nado.	Parque Marino Atlantis
6) RICHI	M	AVID*028*299*116	13 años	Mayo del 2000	Espectáculo, delfinoterapia, nado.	Parque Marino Atlantis
7) AKYRA	H	AVID*048*260*346	9 años	Febrero del 2002	Espectáculo, delfinoterapia, nado.	Parque Marino Atlantis
8) OSIRIS	H	AVID*048*261*868	8 años	Febrero del 2002	Espectáculo, delfinoterapia, nado.	Parque Marino Atlantis
9) TAMY	H	AVID*040*352*891	3 años	Nacida en cautiverio 2 Mayo del 2002	Espectáculo, delfinoterapia.	Parque Marino Atlantis
10) CHAME	M	AVID 026*309*613	5 años	Marzo del 2000	Nado con delfines.	Delfiniti
11) CHOCHO	M	AVID 026*304*318	9 años	Marzo del 2000	Nado con delfines.	Delfiniti
12) BRISA	H	AVID 026*581*356	12 años	Marzo del 2000	Nado con delfines.	Delfiniti
13) LLUVIA	H	AVID 034*785*820	14 años	Noviembre del 2000	Nado con delfines.	Delfiniti
14) KALY	H	AVID 026*365*811	7 años	Marzo del 2000	Nado con delfines.	Delfiniti
15) MIA	H	AVID 058*605*576	1 año	Nacida en cautiverio Octubre del 2003	Nado con delfines.	Delfiniti
16) HANNA	H	AVID 031*792*573	15 años	-----	Espectáculo.	Six Flags
17) TANGO	M	AVID 048*068*303	12 años	-----	Espectáculo.	Six Flags

2.3 Muestras

Por cada delfín se utilizaron dos bolsas estériles (Wirl-pack) y dos hisopos estériles por cada región anatómica muestreada; todas las muestras se colocaron en un medio de transporte (AMIE'S con carbón activado), se transportaron en refrigeración a una temperatura de 4°C. Todas las muestras fueron llevadas al laboratorio del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, donde se inició el proceso de aislamiento e identificación en un periodo de tiempo no mayor a 24 horas.

2.3.1 Obtención de la muestra del aparato respiratorio

Se limpió la piel de la periferia del espiráculo con gasas estériles, se colocó una bolsa estéril (Wirl-pack) de boca ancha a unos 2 cm de distancia del espiráculo y mediante una fuerte espiración por el animal se obtuvo una secreción profunda del tracto respiratorio (Figura 4). De la bolsa se tomaron 2 muestras con hisopos estériles y se colocaron en medio de transporte AMIE'S con carbón activado.



Figura 5. Obtención de la muestra del aparato respiratorio.

2.3.2 Obtención de la muestra vaginal o prepucial

Para la adquisición de la muestra vaginal o prepucial, los delfines están entrenados para ir hacia donde está el entrenador y colocarse en una posición dorso ventral en la superficie del agua, el entrenador lo sujeta de la parte dorso ventral y expone el área genital del delfín fuera del agua. La periferia del área genital se limpió con gasas estériles, la hendidura genital se separó con los dedos (se recomienda el uso de guantes estériles) y se procedió a introducir un hisopo estéril en la vagina o en su caso en el prepucio, con movimientos circulares, se tomaron dos muestras por animal. (Figura 6). Cada hisopo se colocó en un medio de transporte (AMIE'S con carbón activado).



Figura 6. Obtención de la muestra vaginal o prepucial.

2.4 Procedimiento bacteriológico

A cada muestra se le realizó un cultivo bacteriológico mediante la técnica de siembra por rotación de la placa en medios de cultivos enriquecidos, selectivos y diferenciales, con el fin de recuperar el mayor número de especies bacterianas posibles, por lo cual se utilizaron agar sangre, agar chocolate, agar Columbia y agar MacConkey.

Las placas se invirtieron y se incubaron bajo condiciones de aerobiosis y microaerobiosis de 24 a 48 h a 37° C, debido a que la mayoría de los organismos aerobios de importancia clínica son en realidad aerobios facultativos; crecen en condiciones aerobias o anaerobias. La atmósfera adecuada para los microorganismos microaerófilos requieren una presión de oxígeno menor a la del aire ambiental, una concentración de 35 % de CO₂, el cual se puede obtenerse en un frasco con una vela, en este caso utilizamos la Jarra de Gaspack (jarra de plástico transparente, con una tapa hermética que se sujeta con una abrazadera para evitar salida de gases). Los productos de la combustión son CO₂ y agua, ambos factores de crecimiento para los organismos.³⁴

Después de la incubación, cada colonia diferente fue descrita macroscópicamente (morfología de la colonia, hemólisis y producción de pigmentos, etc.) y microscópicamente (reacción de Gram, forma y agrupación bacteriana). Posteriormente, se prepararon cultivos puros de las colonias aisladas en agar sangre.

La identificación bacteriana se realizó mediante pruebas bioquímicas para determinar género y especie de acuerdo a diferentes autores.^{35, 36, 37, 38}

Todos los aislamientos fueron almacenados a -80° C, en caldo nutritivo infusión cerebro corazón con 50% de glicerol.

III. RESULTADOS

3.0 Aislamientos totales.

Se obtuvieron 31 muestras del aparato respiratorio y del área genital de 17 delfines nariz de botella *Tursiops truncatus* clínicamente sanos en cautiverio, de las cuales 17 muestras fueron del aparato respiratorio, 8 de la mucosa prepucial y 6 de la mucosa de vaginal.

Debido a que las hembras con el N. 12, 15 y 16 (Cuadro 1), no se encontraban en condiciones aptas para la toma de la muestra del área genital, fue imposible muestrearlas. Las muestras fueron procesadas para determinar la etiología y frecuencia de las bacterias aerobias y microaerofilicas; se realizó un total de 77 aislamientos bacterianos y 3 aislamientos de levaduras, los cuales fueron identificados y tipificados por procedimientos microbiológicos y bioquímicos.

Del aparato respiratorio se obtuvieron 41 aislamientos bacterianos y 3 de levaduras, de los cuales 27 (61%) fueron Gram positivos, 14 (30%) fueron Gram negativos y 3 (7%) fueron levaduras. De la mucosa vaginal se obtuvieron 18 aislamientos bacterianos, de los cuales 10 (56%) fueron Gram positivos y 8 (44%) fueron Gram negativos. De la mucosa prepucial se obtuvieron 16 aislamientos bacterianos, de los cuales 10 (63%) fueron Gram positivos y 6 (37%) fueron Gram negativos. (Figura 7)

Los géneros bacterianos aislados con mayor porcentaje en el aparato respiratorio y el área genital, durante los meses de enero a abril del 2005 fueron *Staphylococcus* spp. (39%), *Pasteurella* spp. (13%), *Actynomices* spp. (10%) y *Escherichia* spp. (5%). (Figura 8)

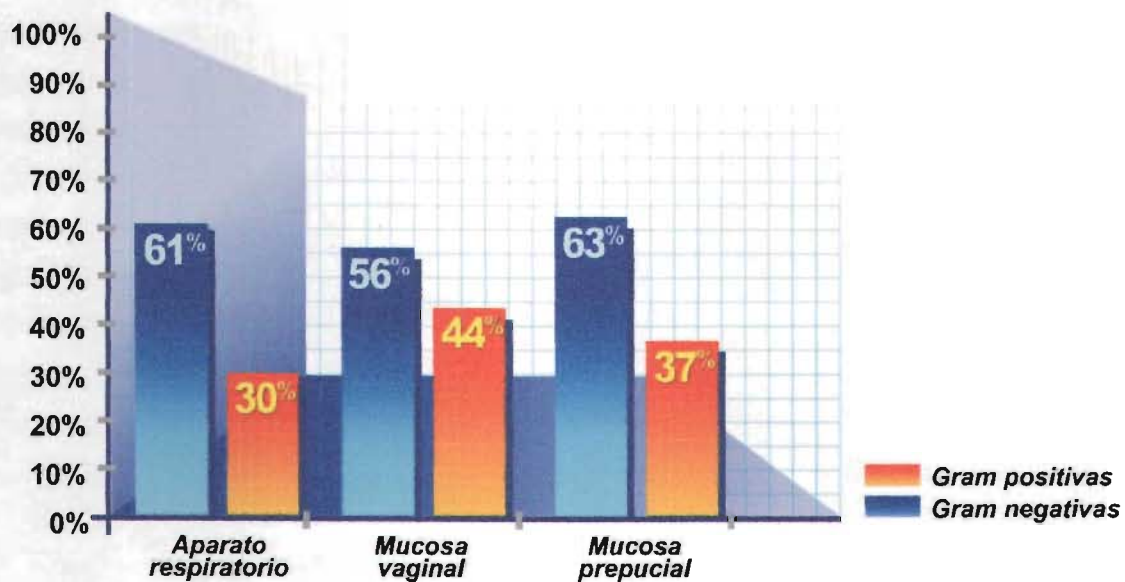


Figura 7. Grafica de los porcentajes de aislamientos de las bacterias del aparato respiratorio y el área genital del delfín nariz de botella.

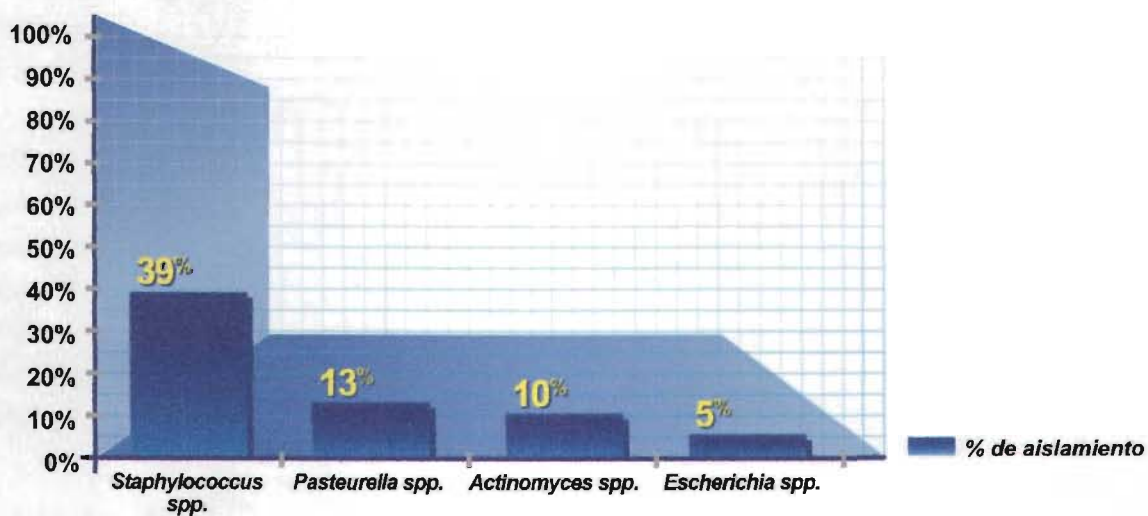


Figura 8. Porcentajes de los géneros bacterianos aislados con mayor frecuencia en el aparato respiratorio y el área genital del delfín nariz de botella.

Los diferentes aislamientos realizados en el aparato respiratorio y el área genital de todos los delfines de este proyecto se muestran en el (Cuadro 2).

Las relaciones importantes que se encontraron en el aparato respiratorio de los delfines nariz de botellas son:

- *S. haemolyticus* se aisló en cinco de nueve animales menores de diez años, con diferentes tipos de actividades y en dos de ocho animales mayores de diez años.
- *S. haemolyticus* y *Pasteurella* spp. se obtuvieron de cuatro de seis delfines procedentes de Delfiniti, en un delfín de los otros seis solo se aisló a *S. haemolyticus*.
- *Candida albicans* se aisló de tres animales mayores de diez años, localizados en diferentes instalaciones.
- *Pasteurella* spp. se aisló de delfines procedentes de diferentes lugares y en edades desde los tres a quince años de edad.

No se encontró relación o diferencia en los aislamientos del aparato respiratorio de los machos y hembras.

Las relaciones importantes que se encontraron en el área genital de los delfines nariz de botellas son:

- El 100% de las bacterias aisladas en el prepucio, se obtuvieron también de la vagina de las hembras.
- *A. israelii* se encontró en el prepucio de los 2 delfines provenientes de Ferias tres y en una hembra y un macho provenientes de Delfiniti.
- *Proteus vulgaris* se aisló de dos hembras y un macho provenientes de Atlantis.

Cuadro 2. Bacterias aisladas en el aparato respiratorio y al área genital de los delfines.

NOMBRE	SEXO	EDAD APROX	PRINCIPAL ACTIVIDAD	UBICACIÓN	BACTERIAS AISLADAS EN EL APARATO RESPIRATORIO	BACTERIAS AISLADAS EN EL AREA GENITAL
1) ISIS	H	17 años	Espectáculo, delfinoterapia, nado.	Acuario de Aragón	<i>Candida albicans</i>	<i>S. saccharolyticus</i> , <i>Streptococcus</i> spp., <i>Y. enterocolitica</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Morganella morganii</i>
2) HOLBOX	M	16 años	Espectáculo, delfinoterapia, nado.	Acuario de Aragón	<i>S. lentus</i>	<i>Staphylococcus</i> spp.
3) VAIRON	M	9 años	Espectáculo.	Ferías III	<i>S. haemolyticus</i>	<i>Corynebacterium</i> spp.
4) ZEUS	M	8 años	Espectáculo.	Feria III	<i>S. aureus</i> , <i>S. lentus</i> , <i>Pasteurella</i> spp.	<i>S. haemolyticus</i> , <i>A. israelii</i> , <i>M. morganii</i>
5) BAXAL	M	15 años	Espectáculo, delfinoterapia, nado.	Parque Marino Atlantis	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>S. chromogenes</i> , <i>A. israelii</i> , <i>P. vulgaris</i>
6) RICHI	M	13 años	Espectáculo, delfinoterapia, nado.	Parque Marino Atlantis	<i>S. saprophyticus</i> , <i>C. albicans</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>E. coli</i>	<i>Pasteurella</i> spp., <i>P. haemolytica</i>
7) AKYRA	H	9 años	Espectáculo, delfinoterapia, nado.	Parque Marino Atlantis	<i>S. chromogenes</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>K. oxytoca</i>	<i>A. pyogenes</i> , <i>Proteus vulgaris</i>
8) OSIRIS	H	8 años	Espectáculo, delfinoterapia, nado.	Parque Marino Atlantis	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. calcoaceticus</i>	<i>Proteus vulgaris</i> , <i>E. coli</i>
9) TAMY	H	3 años	Espectáculo, delfinoterapia.	Parque Marino Atlantis	<i>S. haemolyticus</i> , <i>S. lentus</i> , <i>S. sciuri</i>	<i>S. aureus</i> con pigm. <i>A. israelii</i> , <i>E. coli</i> , <i>Y. kristensenii</i> , <i>S. aureus</i> sin pigm.
10) CHAME	M	5 años	Nado con delfines.	Delfiniti	<i>S. haemolyticus</i> , <i>Pasteurella</i> spp., <i>A. israelii</i>	<i>A. israelii</i>
11) CHOCHO	M	9 años	Nado con delfines.	Delfiniti	<i>S. haemolyticus</i> , <i>Pasteurella</i> spp., <i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>
12) BRISA	H	12 años	Nado con delfines.	Delfiniti	<i>Pasteurella</i> spp., <i>Corynebacterium mycetoides</i> , <i>Corynebacterium</i> spp., <i>S. carnosus</i>	
13) LLUVIA	H	14 años	Nado con delfines.	Delfiniti	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Pasteurella</i> spp., <i>A. israelii</i>	<i>Pasteurella</i> spp., <i>A. israelii</i>
14) KALY	H	7 años	Nado con delfines.	Delfiniti	<i>S. warneri</i>	<i>Corynebacterium</i> spp.
15) MIA	H	1 año	Nado con delfines.	Delfiniti	<i>S. carnosus</i> , <i>S. haemolyticus</i> y <i>Corynebacterium kutsheri</i>	
16) HANNA	H	15 años	Espectáculo.	Six Flags	<i>C. albicans</i> , <i>A. pyogenes</i> , <i>Pasteurella</i> spp.	
17) TANGO	M	12 años	Espectáculo.	Six Flags	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> , <i>S. chromogenes</i>	<i>A. pyogenes</i> , <i>M. morganii</i>

3.1 Aislamientos del aparato respiratorio.

Del aparato respiratorio se obtuvieron 42 aislamientos bacterianos y 3 de levaduras; de los cuales 27 aislamientos bacterianos fueron Gram positivos (61%), 14 aislamientos bacterianos fueron Gram negativos (32%) y 3 aislamientos fueron levaduras (7%). (Figura 9).

Los resultados de los aislamientos en el aparato respiratorio muestran que los géneros con mayor porcentaje de aislamiento fueron: *Staphylococcus* (47%), *Pasteurella* (16%), *Corynebacterium* (7%) y *Candida* (7%). (Cuadro 3)

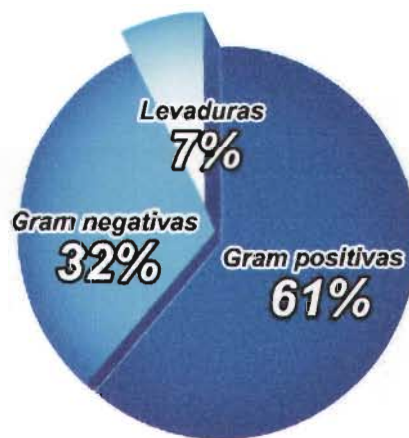


Figura 9. Porcentajes de los aislamientos realizados en el aparato respiratorio.

Cuadro 3. Total de bacterias y levaduras aisladas del aparato respiratorio del delfín nariz de botella.

Género	Especies	# de aislamientos
<i>Staphylococcus</i>	<i>haemolyticus</i>	7
	<i>aureus</i>	2
	<i>carneus</i>	2
	<i>chromogenes</i>	2
	<i>epidermidis</i>	2
	<i>lentus</i>	2
	<i>saprophyticus</i>	1
	<i>saccharolyticus</i>	1
	<i>sciuri</i>	1
	<i>warneri</i>	1
<i>Pasteurella</i>	spp.	8
<i>Corynebacterium</i>	spp.	1
	<i>kutsheri</i>	1
	<i>mycetoides</i>	1
<i>Candida</i>	<i>Albicans</i>	3
<i>Actynomices</i>	<i>Israelii</i>	2
<i>Escherichia</i>	<i>Coli</i>	2
<i>Acinetobacter</i>	<i>calcoaceticus</i>	1
<i>Aeromonas</i>	<i>Hydrophila</i>	1
<i>Arcanobacterium</i>	<i>Pyogenes</i>	1
<i>Citrobacter</i>	<i>Freundi</i>	1
<i>Klebsiella</i>	<i>Oxytoca</i>	1
<i>Pseudomonas</i>	<i>Aeruginosa</i>	1

3.2 Aislamientos de vagina

Del área de la mucosa vaginal se obtuvieron 18 aislamientos bacterianos, de los cuales 10 (56%) fueron Gram positivos y 8 (44%) aislamientos bacterianos fueron Gram negativos. (Figura 10).

Los resultados de los aislamientos de la mucosa vaginal, muestran que los géneros con mayor porcentaje en el número de aislamientos fueron: *Staphylococcus* (28%), *Actynomices* (11%), *Escherichia* (11%), *Proteus* (11%) y *Yersinia* (11%). (Cuadro 4)

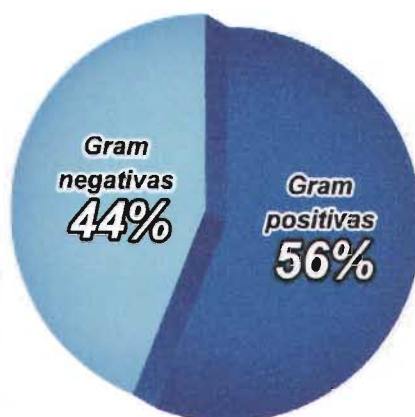


Figura 10. Porcentaje de las bacterias aisladas en la mucosa vaginal

Cuadro 4. Total de bacterias aisladas de la mucosa vaginal del delfín nariz de botella.

Género	Espécies	# de aislamientos
<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>	2
	spp.	1
	<i>epidermidis</i>	1
	<i>saccharolyticus</i>	1
<i>Actynomices</i>	<i>Israelii</i>	2
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	2
<i>Proteus</i>	<i>vulgaris</i>	2
<i>Yersinia</i>	<i>enterocolitica</i>	1
	<i>kristensenii</i>	1
<i>Arcanobacterium</i>	<i>pyogenes</i>	1
<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>	1
<i>Streptococcus</i>	spp.	1
<i>Pasteurella</i>	spp.	1
<i>Corynebacterium</i>	spp.	1

3.3 Aislamientos del prepucio.

Del área de la mucosa prepucial se obtuvieron 16 aislamientos bacterianos de los cuales 10 (63%) fueron Gram positivos y 6 (37%) fueron Gram negativos. (Figura 11).

Los resultados de los aislamientos de la mucosa prepucial muestran que los géneros con mayor porcentaje en el número de aislamientos fueron: *Staphylococcus* (25%), *Actynomices* (25%), *Morganella* (12.5%) y *Pasteurella* (12.5%). (Cuadro 5)

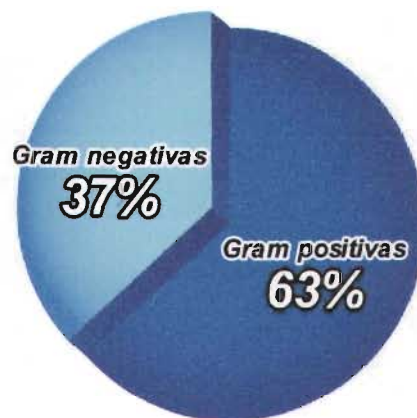


Figura 11. Porcentaje de las bacterias aisladas en la mucosa prepucial.

Cuadro 5. Total de bacterias aisladas de la mucosa prepucial del delfín nariz de botella.

Género	Especies	# de aislamientos
<i>Actynomices</i>	<i>israelii</i>	4
<i>Staphylococcus</i>	<i>haemolyticus</i>	2
	<i>chromogenes</i>	1
	spp.	1
<i>Pasteurella</i>	spp.	2
<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>	2
<i>Corynebacterium</i>	spp.	1
<i>Arcanobacterium</i>	<i>pyogenes</i>	1
<i>Proteus</i>	<i>vulgaris</i>	1
<i>Yersinia</i>	<i>frederikseni</i>	1

IV. DISCUSIÓN

4.1 Aparato respiratorio

En el presente estudio se determinaron diversos tipos de bacterias aerobias y microaerofilicas del aparato respiratorio de delfines nariz de botella *Tursiops truncatus* clínicamente sanos en cautiverio. Diversas bacterias aisladas, han sido reportadas previamente en el delfín nariz de botella como causantes de neumonía, la cual es la principal causa de muerte en estos animales.¹

El género *Staphylococcus* fue aislado con mayor porcentaje en el aparato respiratorio, este género esta comúnmente localizado en diferentes regiones anatómicas como microbiota normal del ecosistema cutáneo, incluyendo piel y mucosas de diferentes animales; especies de este género como *S. aureus* y *S. saprophyticus* son considerados patógenos primarios; *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* y los *Staphylococcus* coagulasa negativos son considerados patógenos oportunistas.³⁹

S. aureus se considera parte de la microbiota normal en delfines nariz de botella de vida libre y en cautiverio. También se ha aislado de pulmones con signos de bronconeumonía, en infecciones respiratorias mixtas y del sistema tegumentario del delfín nariz de botella y de la foca de Groenlandia (*Phoca groenlandia*), así mismo en el sistema digestivo de belugas (*Delphinapterus leucas*).⁴⁰

Otro de los géneros aislados con mayor porcentaje fue *Pasteurella* spp., bacilo Gram negativo considerado agente causal de la pasterelosis en delfines, la cual se observa como una bronconeumonía hemorrágica; así también se ha aislado a *Pasteurella multocida* como causante de enteritis, a *Mannheimia haemolytica* como causante de traqueitis hemorrágica.¹ El género *Pasteurella* está presente como microbiota normal en mucosas de diferentes animales homeotermos, predominantemente en el tracto respiratorio alto y el tracto gastrointestinal; puede actuar como patógeno primario u oportunista causando un alto rango de enfermedades ocasionando un decremento en la producción animal.⁴¹

Otras bacterias fueron aisladas con menor porcentaje como *Corynebacterium* spp., *Actynomices israelii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Arcanobacterium pyogenes* y *Citrobacter freundii*, de los cuales no existen reportes de su aislamiento en el delfín nariz de botella; sin embargo, existen reportes acerca de su aislamiento en otros mamíferos marinos. *Corynebacterium* spp., ha sido aislado del sistema tegumentario de mamíferos marinos,¹⁵ en la foca común (*Phoca vitulina*) se ha aislado a partir de abscesos superficiales, heridas, descargas uretrales y oculares.^{42, 43} *Arcanobacterium pyogenes* es frecuentemente aislado en una gran variedad de enfermedades piógenas en muchas especies de animales domésticos y en humanos, es comensal en la superficie de mucosas de los mamíferos.⁴⁴

Otros microorganismos aislados en menor porcentaje en el presente estudio son *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aeromonas hydrophyla* y *Pseudomonas aeruginosa*, estos microorganismos han sido reportados previamente en el delfín *Tursiops truncatus* como causantes de infecciones y neumonías.¹⁴ Su presencia y el tipo de muestra obtenida indica que pueden estar en el tracto respiratorio superior como comensales o como patógenos oportunistas. Asimismo *Aeromonas* spp. comprende un grupo de microorganismos distribuidos en el ambiente acuático. *Aeromonas hydrophila* ha sido reportado como causante de dermatitis ulcerativa y neumonía, se ha aislado del sistema tegumentario, hígado, pulmón, bazo, riñón y sangre del corazón del delfín nariz de botella;^{15, 17} es además un agente causal en una gran variedad de enfermedades sistémicas localizadas en los peces; por lo que su presencia en el delfín nariz de botella puede estar influenciada al medio acuático en el que viven y a que los peces son la parte principal de su alimentación.⁴⁵ *Pseudomonas aeruginosa*, otras de las bacterias aisladas en este trabajo, ha sido reportada en el delfín nariz de botella como causante de bronconeumonía, dermatitis, osteomielitis y septicemias. Se ha reportado en necrosis y ulceración de la piel y en problemas respiratorios; así como también se ha aislado en belugas a partir de muestras del sistema respiratorio y digestivo. En lobos marinos se incluye como parte de la microbiota normal.¹ Se puede encontrar en la mayoría de los ambientes húmedos y de vez en cuando en la microbiota intestinal o en la piel de los humanos, donde es conocida como una bacteria oportunista y patógeno nosocomial, ocasionando bronconeumonía crónica.¹⁵

La levadura *Candida albicans* fue aislada solo de animales mayores de diez años, los cuales estaban localizados en diferentes lugares. Es un microorganismo considerado como patógeno, asimismo es el agente causal de candidiasis cutánea, esta enfermedad puede ser generalizada, pero se manifiesta principalmente alrededor de las heridas, asociada en las uniones mucocutáneas, el espiráculo y la vagina. En adición a los signos cutáneos, frecuentemente también se muestra en el esófago y en el área gástrica, con signos como la regurgitación, el vómito y el sacudimiento de la cabeza.¹⁴ La lesión patognomónica es la ulceración del esófago. La enfermedad clínica se asocia después del tratamiento con antibióticos, después del tratamiento al agua, cuando el animal está inmunodeprimido o la conjunción de todas las anteriores. Los factores predisponentes son la contaminación fecal y desechos orgánicos del alimento. Se ha aislado de diversos mamíferos marinos incluyendo al delfín nariz de botella.¹³

Estudios realizados en el lobo marino (*Zalophus californianus*), foca común (*Phoca vitulina*) y el elefante marino (*Mirounga angustirostris*), los cuales presentaban problemas neumónicos, se determinó como agentes causales a *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli*, *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Aeromonas* spp. y *Streptococcus* spp., la mayoría de éstos, aislados en el presente trabajo a partir de las muestras obtenidas.³⁹

Higgins reportó el aislamiento de: *Aeromonas hydrophila*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio alginolyticus*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Pseudomonas* spp. y *Aerobacter* spp. como causantes de enfermedades respiratorias en el delfín nariz de botella.¹⁶ En el presente estudio se coincide con el aislamiento de las tres primeras especies bacterianas.

Como parte de la microbiota normal en la cavidad nasal del lobo marino, se ha aislado a *Corynebacterium* spp., *Arcanobacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., *E. coli*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*; todos ellos aislados en el presente trabajo.⁴⁶

4.2 Área genital

Debido a la ausencia de información de los microorganismos aislados en la mucosa vaginal y en la mucosa prepucial del delfín nariz de botella *Tursiops truncatus*, el presente estudio es el primero que se realiza en esta área.

Staphylococcus spp. fue el género que se aisló con mayor porcentaje en la mucosa vaginal, es considerado como microbiota normal en diferentes regiones anatómicas de humanos, cerdos, caballos, conejos, ovejas, ganado y perros. Especies de este género como *S. aureus* y *S. saprophyticus* son considerados patógenos primarios; *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* y los *Staphylococcus* coagulasa negativos son considerados patógenos oportunistas.⁴⁷

Otros microorganismos aislados con menor porcentaje en este estudio son: *Actinomices israelii*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Pasteurella* spp. y *Streptococcus* spp. De los cuales *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli* spp., *Pasteurella* spp. y *Streptococcus* spp., son considerados microbiota normal de vagina en perras y pueden producir infecciones uterinas debido a factores como cambios hormonales.⁴⁸ En belugas y lobos marinos se ha aislado del sistema genitourinario a *E. coli*, *Morganella morganii* y *Staphylococcus* spp.¹⁵ En descargas uretrales purulentas de elefantes marinos se ha aislado a *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* y *Enterobacter cloacae*;⁴² los tres primeros también se aislaron en el presente trabajo.

A diferencia de la mucosa vaginal, en la mucosa prepucial, *Actinomyces israelii*, fue la especie bacteriana con mayor número de aislamientos, seguido por *Staphylococcus haemolyticus*, *Morganella morganii*, *Pasteurella* spp., *Arcanobacterium pyogenes*, *Proteus vulgaris* y *Corynebacterium* spp.

Pasteurella spp., *Proteus* spp. y *Staphylococcus* spp. se aislaron en el presente trabajo de la mucosa prepucial y se han reportado también del aparato genitourinario de mamíferos, del semen de guepardos y de gatos domésticos, considerados como parte de la microbiota normal en estos animales.^{47, 49}

Los géneros bacterianos *Proteus* y *Morganella* fueron aislados en la mucosa vaginal y prepucial, estos no son considerados potencialmente patógenos; *Proteus* spp. esta ampliamente distribuido en el ambiente, es parte de la microflora normal del tracto gastrointestinal en humanos. *Proteus mirabilis* ha sido reportado en un delfín nariz de botella que encallo, con lesiones en el hígado y pulmón.⁵⁰ *Morganella morganii* es un oportunista secundario en diarreas de humanos, es muy común en infecciones nosocomiales, se ha aislado de humanos en la orina, exudado respiratorio y en la vejiga. En los delfines nariz de botella se ha aislado del sistema tegumentario y en las belugas del sistema digestivo y genitourinario.⁵¹

Todas las bacterias aisladas de la mucosa prepucial, se aislaron también de la mucosa vaginal. El origen de las bacterias de la mucosa vaginal y prepucial en gatos y perros es desconocida, pero puede ser derivada de la microbiota fecal.⁴⁷ Aunque no existen reportes de que agentes bacterianos influyan en las funciones reproductivas en los delfines nariz de botella, estos organismos pueden llegar a ser patógenos potenciales durante la preñez o ser la causa de muerte neonatal, durante la preñez la microbiota normal de gatos domésticos puede ascender de la vagina hacia el útero, resultando en una placentitis bacteriana, septicemia fetal y neumonía fetal. Otras bacterias asociadas a desordenes reproductivos, incluyendo la muerte neonatal en gatos, son *E. coli*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., entre otros; los cuales también se han aislado en la vagina del delfín nariz de botella en este trabajo y como parte de la microbiota normal en gatas y perras.⁴⁹

4.3 Conclusiones

Las bacterias Gram positivas conforman el 63% de las bacterias asociadas al aparato respiratorio y al área genital de los delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*) clínicamente sanos, en cautiverio.

El género *Staphylococcus* (39%) fue el microorganismo hallado con mayor porcentaje en los aislamientos del aparato respiratorio, la mucosa vaginal y prepucial del delfín nariz de botella *Tursiops truncatus* clínicamente sanos, en cautiverio, seguido por *Pasteurella* spp. (13%), *Actynomices israelii* (10%) y *Escherichia coli* (5%).

Estos resultados muestran la presencia de diversos microorganismos en el área genital y el aparato respiratorio del delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*) clínicamente sanos, por lo que estos microorganismos pueden ser considerados como parte de la microbiota normal y convertirse en patógenos oportunistas cuando el animal está inmunodeprimido. Es necesario obtener muestras en determinadas épocas del año, para así determinar cuales son los microorganismos con mayor frecuencia en el aislamiento y establecer así cual es la microbiota normal residente y la transitoria.

Los hallazgos obtenidos en este trabajo contribuyen en el área clínica de mamíferos marinos en cautiverio, debido a que el conocer que tipo de microorganismos habitan en diferentes mucosas nos permitirá establecer indicadores que propicien un control y un manejo adecuado de los animales y sus instalaciones, incluyendo medidas de medicina preventiva, tanto en los animales como en las personas que tienen contacto con ellos (personal y visitantes); se debe evitar el estrés en estos animales para disminuir la posibilidad de que desarrollen alguna patología clínica, continuar con el monitoreo de su salud, complementando con el mantenimiento de su hábitat en óptimas condiciones, manteniendo una buena calidad del agua; para evitar la transmisión de los microorganismos hacia los humanos (zoonosis), el personal que labora con los delfines debe conocer los microorganismos que se encuentran en estos animales y su potencial zoonótico, para establecer medidas adecuadas de seguridad e higiene.

V. REFERENCIAS

1. Dunn LJ. Bacterial and mycotic diseases of cetaceans and pinnipeds. Handbook of Marine Mammal Medicine: Health, Disease, and Rehabilitation. USA: CRC Press, 1990.
2. www.hydronauta.com/temas/biologia/mamiferos/mamiferos-marinos.htm#historia. Bruno Almón, Agosto del 2001
3. www.biologiamarina.com/dev/projects/mamiferos.asp 2005
4. www.mamiferosmarinos.com/ 2005
5. Gorostieta GCE. Manual del Delfín Nariz de Botella (*Tursiops truncatus*), cautiverio y delfinoterapia (tesis de licenciatura). México (Toluca): Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del estado de México, 2003.
6. Fernández AY. Delfín nariz de Botella, (*Tursiops truncatus*) (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1991.
7. www.semarnat.gob.mx/estadisticas_2000/informe_2000/06_Biodiversidad/6.3_Conservacion/index.shtml#cetaceos
8. Gódinez RCR. Anatomía reproductiva, ciclo estral, gestación, lactancia y algunas estrategias reproductivas usadas en delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*) en cautiverio, así como bases para el establecimiento de un programa reproductivo en México (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1992.
9. Carwardine M, Hoyt E, Fordyce ER, Gill P. Ballenas, delfines y marsopas. Barcelona: Omega, 1999.
10. <http://semades.jalisco.gob.mx/site/nom059ecol2001.htm>
11. www.semarnat.gob.mx/dof/textos/010608.shtml
12. http://portal.semarnat.gob.mx/marco_juridico/federal/vidasilvestre.shtml. México, D.F., a 15 de diciembre de 2001.
13. Medway W. Some bacterial and mycotic diseases of marine mammals. J Am Vet Med Assoc 1980; 177: 831-834
14. Medway W. Respiratory Problems in Captive Small Cetaceans. J Am Vet Med Assoc 1973; 163: 571-573.

-
15. Higgins R. Bacteria and fungi of marine mammals: A review. *Can Vet J* 2000; 41: 105-116.
 16. Moeller B. R. Diseases of marine mammals.
www.afip.org/CLDavids/GrossCourse98/MAMMALS.html 1998.
 17. Cusik PK, Bullock BC. Ulcerative dermatitis and pneumonia associated with *Aeromonas hydrophyla* infection in the bottle-nosed dolphin. *J Am Vet Med Assoc*; 163: 578-579.
 18. Hatha M, Vivekanandhan AA. Antibiotic resistance pattern of motile aeromonads from farm raised fresh water fish. *Int J Food Microbiol* 2005; 98:131-134.
 19. Fowler ME, editor. Cetacea (Whales, dolphins and porpoise) Zoo and Wild Animal Medicine. 5th ed. Philadelphia: Saunders, 1993.
 20. Kennedy S. Viral diseases in marine mammals. In: Dierauf AL, editors. Handbook of Marine Mammal Medicine: Health, Disease, and Rehabilitation. USA: CRC Press, 1990: 97-111.
 21. G. GW, Allen FJ, Ridway HS. Vaccination of porpoise (*Tursiops truncatus*) against *Erysipelothrix rhusopathiae* infection. *J Wildl Dis* 1971; 7: 292-295.
 22. Buck DJ, Shepard LL. *Clostridium perfringes* as the cause of death of captive atlantic bottlenosed dolphin (*Tursiops truncatus*). *J Wildl Dis* 1987; 23: 488-491.
 23. Foster G, Mcmillan AP, Godfroid J, Howie F, Ross HM. A review of *Brucella* sp. Infection of sea mammals with particular emphasis on isolates from Scotland. *Vet Microb* 2002; 90: 563-580.
 24. Sweeney J.C., Ridway SH. Common diseases of small cetaceans. *JAVMA* 1975; 167:533-539.
 25. Dierauf AL. Marine mammal parasitology. In: Dierauf AL, editors. Handbook of Marine Mammal Medicine: Health, Disease, and Rehabilitation. USA: CRC Press, 1990: 89-95.
 26. Trujillo HM. Determinación de la microflora normal de ojo en equinos del hipódromo de las americas (tesis de licenciatura). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 1992.

-
27. Sorum H, Sunde M. Resistance to antibiotics in the normal flora of animal. *Vet Res* 2001; 32:227
 28. Ingraham LJ. *Introduction to Microbiology*. 2nd ed. USA: Broos/Cole, 2000.
 29. Levinson W. *Medical Microbiology & Immunology*. 6a ed. USA: McGraw-Hill, 2000.
 30. Buck DJ. Occurrence of human-associated yeast in the feces and pool waters of captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *J Wildl Dis* 1980; 16: 141-149.
 31. Peña HN. *Neuroendocrinología del estrés*. 1 er curso integral sobre estrés en animales domésticos; 1994; México (DF): UNAM FMVZ 1994: 3-11.
 32. Dierauf AL. Stress in marine mammals. In: Dierauf AL, editors. *Handbook of Marine Mammal Medicine: Health, Disease, and Rehabilitation*. USA: CRC Press, 1990: 295-301.
 33. Caballero CS, Sumano LH, Ocampo CL. *Estrés y producción animal*. *Etología aplicada*. México (DF): UNAM. FMVZ. Departamento de etología y fauna silvestre y de laboratorio. 1995: 12-16.
 34. Bailey S. *Diagnóstico Microbiológico*. 7ª ed. Buenos Aires: Panamericana, 1996.
 35. Barrow GI, Feltham RKA. *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria*. 3rd ed London: Cambridge University Press, 1993.
 36. Holth JB, Krieg NR, Sneath HAP, Stanley JT, Williams T. *Bergey's Manual of the determinative Bacteriology*. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins, 2000.
 37. Murray PR, Baron A, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover R H. *Manual of clinical Microbiology*. 6a ed. Washington, D. C.: ASM Press, 1995.
 38. Quinn PJ, Carter ME, Merkey BK, Carter GR. *Clinical Veterinary Microbiology*. España: Wolfe, 1994.
 39. Kloos WE, Bannerman LT. Update on clinical significance of coagulase negative Staphylococci. *Clinical Microbiol Rev* 1994; 7: 117-140.
 40. Streitfeld MM, Chapman GC. *Staphylococcus aureus*. Infection of captive dolphins (*Tursiops truncatus*) and oceanarium personnel. *Am J Vet Res* 1976; 37:303-305.
 41. Catry B, Baele M, Opsomer G. tRNA- intergenic spacer PCR for the identification of *Pasteurella* and *Manheimia* spp. *Vet Microbiol* 2004; 98:251-260.

-
42. Thornton MS, Nolan S, Gulland F. Bacterial isolates from California sea lion (*Zalophus californianus*), harbor seals (*Phoca vitulina*), and northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*) admitted to a rehabilitation center along the central California coast, 1994-1995. *J Zoo Wild Med.* 1998; 29:171-176
 43. Pascual C, Foster G, Alvarez N, Collins MD. *Corynebacterium phocae* sp. nov., isolate from the common seal (*phoca vitulina*). *Int J Syst Bact* 1998; 48: 601-604.
 44. Pascual RC, Foster G. Phylogenetic analysis of the genus *Actinomyces* based on 16S rRNA gene sequences. Description of *Arcanobacterium phocae* sp. nov.; *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47:46-53.
 45. Hatha M, Vivekanandhan AA. Antibiotic resistance pattern of motile aeromonads from farm raised fresh water fish. *Int J Food Microbiol* 2005; 98:131-134.
 46. Hernández CR, Martínez CHL, Díaz AA, Romero OA; Godínez RC, Zavala GA, Verdugo RA. Aerobic bacterial flora of the nasal cavity in Gulf of California sea lion (*Zalophus californianus*). *Vet J.* 2004 (in press).
 47. Utah CH, Hoskins DJ. Distribution of staphylococcal species on clinically healthy cats. *Am J Vet Res* 1985; 46: 1824-1828.
 48. Baba E, Hata H. Vaginal and uterine microflora of adult dogs. *Am J Vet Res* 1982; 44: 606-609.
 49. Howard JG, Munson L. Comparative evaluation of seminal, vaginal and rectal bacterial flora in the cheetah and domestic cat. *Zoo Biol* 1993; 12: 81-96.
 50. Parson ECM, Jefferson TA. Post-mortem investigation on stranded dolphins and porpoises from Hong Kong waters. *J Wildl Dis* 2000; 36: 342-356.
 51. O'Hara MC, Brenner WF. Classification, Identification and clinical significance of *Proteus*, *Providencia* and *Morganella*. *Clinical Microbiol Rev* 2000; 13:534-546