

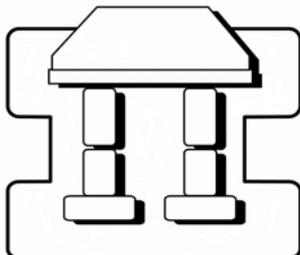


Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

"CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE LAS
BACTERIAS IMPLICADAS EN AEROMONIASIS
(Pata Roja), EN ANFIBIOS ANUROS
PERTENECIENTES AL LABORATORIO DE
HERPETOLOGÍA UNAM campus IZTACALA"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A :
MARÍA ELBA ROCHA REY



IZTACALA

Dirigido por:
Biol. Amaya González Ruiz.

Los Reyes Iztacala, Tlalnepanitla, Estado de México, 2005



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.



AGRADECIMIENTOS

Con mucho afecto y gratitud a la Biol. Amaya González Ruíz, por su ayuda, dirección y paciencia en la realización del presente trabajo.

Con afecto al Biol. Enrique Godínez Cano por todas las facilidades y ayuda brindada en el Laboratorio de Herpetología del Campus Iztacala.

A los profesores:

Dr. Sergio Vaca Pacheco

M. en C. Gloria Luz Paniagua Contreras

Q. F. B. Esperanza del Socorro López Valderrama

M. en C. Ma. Graciela Molina González

Por la aportación de sus conocimientos y valiosa ayuda, que contribuyeron a la realización de este trabajo.

A la M. En C. Rosario García Alavez por su incondicional ayuda en la elaboración de este trabajo

A las M. V. Z. Ma. Eugenia Trejo Cazares y Eva López Prieto, por su sugerencias en la realización práctica de este trabajo.

A los Biólogos Inna Paola Plaza Resendíz y Armando Ávila Dorador por su valiosa ayuda en la elaboración de este trabajo.

A la Pedagoga Ivonne Muños y al Psicólogo Francisco Rosas por su valiosa ayuda en la estructuración de este trabajo.

Al A. de E. Marcelo Bautista Ortiz por su ayuda en el diseño de las gráficas de este trabajo.

DEDICATORIAS

A Dios: Por que me dio las herramientas para llegar hasta aquí.

A mis Padres: Socorro Rey Sandoval y Jesús Rocha Sánchez, Por su cariño, comprensión y apoyo, ustedes son los pilares de mi vida y este trabajo va con todo cariño para ustedes, gracias por todo.

A mis Tíos: David y Luis, que son segundos padres para mi y mis hermanos, gracias por todo el cariño que nos dan.

A mi Hermana Julieta: por ser una muy buena hermana, comprensiva y cariñosa, te dedico mi trabajo. Con afecto a mi cuñado Gerardo , por todo, gracias. A mis sobrinitas Angélica y Valentina por ser las personitas que me hicieron ver la vida desde otra perspectiva.

A mi Hermano Juan. por que aunque estamos lejos, los lazos de cariño están más fuertes que nunca. A mi cuñada Verónica con afecto.

A mis amigas Maribel y Carmen, gracias por su amistad su apoyo y ayuda, por todo lo que representan para mi.

A mi amiga Rosis Lauris (+): por tu amistad y todos los recuerdos que en mi y en los que te conocieron, tu dejaste.

A mis amigas: Chayo y Moni, por su valiosa amistad y apoyo en todo momento.

A mi mejor amigo: Josefo, con todo afecto por todos los momentos que juntos hemos vivido.

A mis compadres Felipón y Juanita por todo su cariño y ayuda, para mis ahijada Mariana con mucho afecto.

A mi súper amigo: Víctor López por tu amistad gracias.

A mi amigo: Isaac con mucho afecto.

A mi amigo Juan Antonio.

A mis amigos: Nico, Joel y Martín: Por todos los buenos momentos que compartimos en la escuela y las prácticas.

A Maru y Eva, chicas ya saben lo que las quiero.

A Gabriel (Piccolo), por tu comprensión y amistad , siempre estas en mis pensamientos.

A Rocío y Arturo por toda su buena vibra y sobre todo por ser buenos amigos.

A Sandra gracias por todo.

A mis amigos del grupo 02: Pedro, Adrián, Lalo, Miguel, Josefina, Fernanda, Sarahí, Bárbara, Jaime , Israel, Pancho, Norma y lulú.

A mis amigo José Luis, por su gran amistad.

Al bicharrejo Noemí por su apoyo.

A Georgina e Iván, se les quiere.

Al H. H. Cuerpo veterinario de el vivario: Luis Grajales, Gabriel Pérez y Karla.

A mis amigos del vivario: Tatanka, Omar, Lisette, Yadira, Blanca, Olga, Luisita , Miriam, Toño, Raúl, Bety, Cahrlie, y Leo.

A mi gran amiga Carmen Rosales, por todo gracias.

A Yun, Toño y Lizzy, por todo lo que significan para mi.

A mi buena amiga Gude, por su ayuda y amistad en todo momento, por ser mi ángel de la guarda.

A mis amiguísimos Inna y Armando, chicos su amistad es muy importante.

A mi amiga Oli Zebadúa, por ser incondicional y muy buena persona.

A Jorgito y Goyo por ser representantes de una muy buena etapa de mi vida.

A mi amigo Emmanuelle, por que fuiste incondicional.

A todos mis maestros de Iztaharvard: Edith, Silvia, Irma Delfín, Martín, Toño Meyran, Al maetrsodonte, Panchito, Poncho, Marcial, Lety, Alba, Paty, Samuel y Tzasná.

Al rebaño selectos de el colegio Gandhi: Carmen, Bety, Celia, Maru y Paty, gracias por su apoyo y amistad chicas.

A mis amigos del Gandhi: Irma, Evelyn, Marissa, Angie, Beto, Marce, Ivonne, Paco y Marcelo.

ÍNDICE

AGRADACIMIENTOS	3
DEDICATORIA	4
ÍNDICE	7
RESUMEN	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. ANTECEDENTES	12
3. OBJETIVOS	14
4. METODOLOGÍA	17
5. RESULTADOS	20
6. DISCUSIÓN	33
7. CONCLUSIONES	40
8. LITERATURA CITADA	41
APÉNDICE I	44
APÉNDICE II	45
APÉNDICE III	48
APÉNDICE IV	51

RESUMEN

La aeromoniasis o pata roja es una enfermedad que ataca entre otros animales a los anfibios y probablemente es la afección más importante en este grupo de animales ya que es la responsable de la muerte de la mayoría de estos organismos mantenidos en cautiverio y en su estado natural. *Aeromonas hydrophila* es una de las principales bacterias causantes de esta enfermedad, ha sido reportada como parte de la flora normal de anfibios (Carr, et al .1976; Gibbs, 1973 y Van De Waaij, et al. 1974), señalando que un estado de estrés en el animal provoca un disparo en el crecimiento de las bacterias dando paso a la enfermedad, sin embargo actúa con otras especies bacterianas, sobre las cuales no se ha podido determinar su intervención en la enfermedad. El presente trabajo pretende contribuir al conocimiento de las bacterias que están implicadas en la aeromoniasis o pata roja. Para tal efecto se trabajó con 45 anfibios anuros, adultos, sanos y con signología de aeromoniasis, pertenecientes a la colección del laboratorio de herpetología del campus Iztacala, se muestreó la piel de las patas posteriores de estos organismos, para la posterior identificación bacteriana presente en la piel de cada individuo. Los géneros bacterianos aislados en los organismos muestreados fueron: *Salmonella* sp., *Citrobacter* sp., *Shigella* sp., *Arizona* sp., *E. coli*, *Alcaligenes* sp., *Tatumella* sp., *Providencia* sp., *Klebsiella* sp., *Serratia* sp., *Aeromonas* sp., *Morganella* sp., *Enterobacter* sp., *Proteus* sp., *Hafnia* sp., *Pseudomonas* sp. y *Ewingella* sp. Los porcentajes de incidencia de aparición más altos en animales clínicamente sanos, correspondieron a los géneros *Salmonella* sp. (80 %), *Citrobacter* sp. (67.51 %) y *Shigella* sp. (62.85%). En los animales con signología de pata roja, los porcentajes más altos de incidencia refieren a *Alcaligenes* sp. (81.81 %), *Citrobacter* sp. y *Salmonella* sp. con 63.63 %, cada uno. En los resultados obtenidos en la frecuencia relativa de aparición en animales clínicamente sanos se observan los valores más altos para *Salmonella* sp. (15.39 %), *Citrobacter* sp.(12.82 %) y *Shigella* sp. (12.35 %), mientras que en los animales con signología de pata roja, los porcentajes de frecuencia relativa los presentaron : *E. coli* (17.17%), *Morganella* (13.13 %) *Salmonella* sp. *Citrobacter* sp., y *Alcaligenes* sp. con 11.11 cada uno. De acuerdo a los resultados obtenidos, la enfermedad de la pata roja se asocia con la presencia de las bacterias *Escherichia coli*, *Alcaligenes* sp., *Proteus* sp., *Enterobacter* sp., y *Aeromonas hydrophila*, sin que se pueda considerar a esta última como la responsable exclusiva o más importante de esta afección.

1. INTRODUCCIÓN

La aeromoniasis es una enfermedad de tipo bacteriana que ataca a animales tales como peces, anfibios, reptiles y mamíferos (Boyer , et. al. 1971; Carr , et. al. 1976; Gibbs , et. al. 1971; Marcus, 1988; Shotts, 1984) En peces y mamíferos provoca fuertes diarreas (Constantino, 1997); en reptiles como las serpientes causa ulceraciones bucales y neumonías, en lagartijas, tortugas y cocodrilos provoca dermatitis y osteodermatitis, afectando también órganos internos (Pasquale, et. al. 1994) en anfibios provoca severos problemas a nivel de piel y órganos como hígado, bazo, pulmones y riñones (Cooper, , et. al. 1978; Schlotter, 1981).

En el caso particular de anuros esta enfermedad es llamada comúnmente **Pata Roja o “red leg”**, y probablemente es la afección más importante en anfibios ya que es la responsable de la muerte de la mayoría de estos animales mantenidos en cautiverio y en su estado natural (Kulp , et. al. 1942; Hird, 1981; Cunningham , et. al. 1996).

Aeromonas hydrophila es una de las principales bacterias causantes de esta enfermedad, se ha aislado junto con otras bacterias de los géneros *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Vibrio* y *Acinetobacter* entre otras (Anver y Pond, 1984; Marcus, 1985 y Reichenbach-Kinkle y Elkan 1995, citado en Duhon, 1989) Así también se ha encontrado junto con *Alcaligenes faecalis* (Román, 1986), *Pseudomonas fluorescens*, *Mima polymorpha*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Citrobacter freundii* (Glorioso, et. al. 1974).

Existen otros géneros como *Mima*, *Serratia*, *Escherichia*, *Arizona*, *Enterobacter*, *Salmonella* y *Edwardsiella* que han sido encontradas junto con *A. hydrophila*, sin embargo, la relación con la enfermedad, la relación con la enfermedad no está aún determinada (Brothers, 1977, citado en Shotts, 1984).

Aeromonas ha sido reportada como parte de la flora normal de anfibios (Carr, et. al. 1976; Gibbs, 1973 Van De Waaij, , et. al. 1974), señalando que un estado de estrés en el animal provoca un disparo en el crecimiento de las bacterias dando paso a la enfermedad. *A. hydrophila* es considerado un clásico patógeno oportunista que ataca comúnmente a hospederos inmunodeprimidos, y suele encontrarse en el agua donde estos animales habitan (Kexel y Schubert, 1967, citado en Shotts, 1984) Los signos clínicos de esta enfermedad son, pérdida

de peso, opacidad del color de la piel, decremento de la actividad, pérdida de coordinación de los movimientos y en casos muy avanzados hemorragias cutáneas y ulceraciones (Campbell, 1995; Colt, et. al. 1984; Marcus, 1988).

Algunos factores que pueden causar la inmunodepresión en los anfibios es un alto contenido de materia orgánica en el agua, un continuo manejo del organismo, estrés termal causado por cambios súbitos de temperatura en el ambiente donde viva el ejemplar o infestaciones por parásitos (Shotts, 1984). Por esto es condición ineludible para la buena salud de los animales mantener un ambiente lo más similar posible al que se encuentra en su vida silvestre (Román, 1986).

La adquisición de la aeromoniasis puede ser por contacto directo a través del agua u otro organismo que ya la padezca y por lo tanto se puede propagar a toda la población de anfibios ocasionando la pérdida total de ésta; por otra parte la enfermedad puede estar presente en las poblaciones de anfibios, pero estar actuando como focos aislados y desarrollarse por los factores antes mencionados. Por esto el tener un conocimiento más amplio de las bacterias que están relacionadas con la enfermedad ayudará a tener un control más apropiado de la misma y evitar por lo tanto la muerte de los organismos.



Organismos con signos de pata roja

2. ANTECEDENTES

Probablemente la primera persona que aisló *Aeromonas hydrophila* de ranas leopardo enfermas fue Russel en 1868, para entonces le denominaron *Bacillus hydrophilus fuscus*; posteriormente Ernst en 1890, realizó investigaciones sobre las enfermedades septicémicas de las ranas reportó el aislamiento de una bacteria a partir de la sangre de las ranas infectadas (Citado en Herrlein, 1954).

Sanarelli en 1891, también describe un organismo aislado de sangre de rana, lo llamó *B. hydrophilus fuscus* y determinó que esta bacteria era patógena para todos los animales de sangre fría (como las ranas, sapos, salamandras, lagartijas y peces de agua dulce), así también descubrió que infectaba a animales de sangre caliente (cobayos, perros y gatos), los que morían al poco tiempo de ser infectados (Citado en Herrlein, 1954).

Kulp y Bordes en 1942, propusieron a *A. hydrophila* como el agente etiológico de la enfermedad que afecta a las ranas llamada comúnmente pata roja, pero en ese entonces ellos le denominaron *Proteus hydrophilus fuscus*.

Dusi en 1949 realizó un estudio con poblaciones de bufos americanos (*Bufo americanus*) y encontró que la pata roja afecta a estos animales de manera natural en su medio ambiente, siendo la bacteria que la causa *A. hydrophila*, Dusi le dió el nombre de *Pseudomonas hydrophila*.

Ewing y et. al. en 1961, observaron que *A. hydrophila* se encontraba frecuentemente implicada en la mortalidad de ranas leopardo mantenidas en cautiverio (Citado en Herrlein, 1954).

Gibbs en 1963 determinó que *A. hydrophila* junto con otras especies del género *Mima* eran los mayores agentes patógenos en una población de *Rana pipiens* en el norte de los Estados Unidos este mismo autor en 1971, en base a su experiencia, propone un tratamiento para la aeromoniasis., en 1973 el mismo Gibbs, realiza un trabajo en el cual define como es la salud y la enfermedad en las *Ranas pipiens* y cuan poco se sabe sobre el tema.

Kexel y Schubert en 1967 determinaron que *Aeromonas spp* es parte de la flora normal de la rana de Darwin (*Rhinoderma darwini*) (Citado en Herrlein, 1954).

Elkan (1965) y Marcus (1985), determinaron que son varias bacterias patógenas las que provocan enfermedades a nivel de piel y órganos internos en ajolotes y otros anfibios.

Boyer (1970) determinó que *A. hydrophila* específicamente causa enfermedades a nivel de piel como la dermatitis ulcerativa en ajolotes.

Shotts y su grupo de colaboradores en 1972, determinaron que *A. hydrophyla* es la causante de la mayoría de las muertes de peces, anfibios y reptiles en un lago eutrófico; en este mismo año, Sterabadi aísla e identifica a *A. hydrophila*, de un brote de septicemia hemorrágica en serpientes.

En 1974 Van der Waaij, Cohen y Nace realizaron un estudio acerca de las bacterias Gram negativas que se encuentran en la cloaca de *Rana pipiens*, determinando las que son potencialmente patógenas en esta rana. Así también en 1974, Glorioso et. al. realizaron un estudio en ranas toro (*Rana catesbeiana*), con signos de pata roja, con base a sus estudios aseveran que la enfermedad septicémica que padecieron las ranas, es una compleja interacción entre las bacterias aislada, algunas de las cuales son habitantes comunes del medio acuático.

En 1976, Carr y et. al., aislaron diversos géneros bacterianos, a partir del tracto digestivo de Ranas toro (*Rana catesbeiana*) encontraron que la diversidad bacteriana cambia por influencia de la temperatura.

En 1978, Cooper et. al. estudiaron una enfermedad que padece la rana de Darwin (*Rhinoderma darwini*), que afecta la parte del rostro de esta rana, y a partir del cual aislaron a *A. hydrophila*.

Posteriormente Shlotter y Ward en 1981 proponen a *A. hydrophila* como la responsable de la infección de la colonia de ajolotes en la universidad de Indiana.

Hird et. al. en 1981, aislaron *A. hydrophila* de ranas adultas y renacuajos de *Rana pipiens*, relacionando la frecuencia de aparición de las bacterias con la temporada del año en que fueron capturados los organismos.

Sugita y Deguchi en 1983 realizaron un estudio de la microflora del tracto digestivo de tortugas de caparazón blando (*Trionyx sinencis*) encontraron que algunas bacterias como *Salmonella* eran parte de la flora normal, y que otras bacterias patógenas como *Aeromonas* y *Vibrio* eran adquiridas a través del alimento.

Coltt, Orwitz y Brook, en 1984, estudiaron una enfermedad que ataca a *Xenopus laevis* y en la cual presenta burbujas de gas entre la membrana de sus patas, aislaron varias especies de bacterias, entre las cuales se identificó a *A. hydrophila*.

En 1986, Román et. al. aislaron *Alcaligenes faecalis* junto con *A. hydrophila*, reprodujeron experimentalmente la enfermedad de la pata roja en ranas de la especie *Leptodactylus ocellatus* y observaron que estas dos bacterias pueden aparecer en ranas enfermas y sanas, pero en los casos en que aparecen asociadas la virulencia de la enfermedad es mayor.

Bradford en 1991 determinó que la extinción de una población de *Rana mucosa* se debió a la pata roja.

En 1995, Paul-Murphy y Moriello estudian las enfermedades de la piel en los anfibios, refiriéndose a la enfermedad de la pata roja como una enfermedad de tipo bacterial, donde las bacterias que con mas frecuencia se aislaron de animales enfermos son *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Mima* Y *Acinetobacter spp*, describiendo la diagnosis y tratamiento de la misma.

En 1996, Cunninham et. al. hicieron estudios histopatológicos y microbiológicos en tejidos de *Rana temporaria*, aislando a *A. hydrophila* como principal causante de la pata roja.

En 1994 Pasquale et. al. estudiaron un brote de una infección de tortugas (*Pseudemys scripta*), causada por *A. hydrophila*; ellos aislaron esta bacteria y aplicaron distintos tratamientos con fármacos, observando la resistencia de *A. hydrophila* a los mismos.

En 1999, Green et. al. estudian un brote de infección causada por la bacteria *Flavobacterium meningosepticum*, en una , colonia de *Xenopus laevis*; ellos describen los signos clínicos, epidemiología, características bioquímicas de las bacterias y los procedimientos para el mantenimiento de los animales atacados por esta infección, describen también las bacterias que aislaron junto con *F. meningosepticum*, que fueron *Aeromonas hydrophyla* y *Flavobacterium sp*.

En el laboratorio de herpetología UNAM Campus Iztacala la aeromoniasis ha estado presente en las poblaciones de anfibios se ha detectado solamente por la signología, lo que dio lugar a que en 1990, todas las ranas adultas del laboratorio murieran (Com. per. Biol. Amaya González Ruiz, Responsable del Laboratorio de Herpetología de la UNAM campus Iztacala).

Los casos de ejemplares enfermos o que mueren con signos presuntivos de aeromoniasis, son frecuentes, sin que a la fecha se haya realizado un estudio de las bacterias asociadas a la enfermedad.

1. OBJETIVOS

Objetivo General

Contribuir al conocimiento de las bacterias implicadas en la enfermedad de la pata roja.

Objetivos Particulares

- Determinar la frecuencia e incidencia de aparición de los géneros bacterianos que se encuentren en los animales muestreados.
- Determinar la abundancia relativa en que se presentan las diferentes bacterias en los ejemplares muestreados.
- Reconocer las especies bacterianas que participan exclusivamente en el proceso patológico.
- Reconocer a las especies bacterianas que se aíslan tanto en organismos enfermos como en ejemplares clínicamente sanos
- Reconocer a las especies bacterianas que presentándose tanto en organismos enfermos como clínicamente sanos, modifican significativamente su abundancia en cada caso.

2. METODOLOGÍA

El estudio se realizó en tres fases; la primera consistió en el muestreo de los organismos, la segunda en el aislamiento de las bacterias y la tercera en la identificación de las mismas.

4.1. Muestreo.

Se trabajó con 45 anfibios anuros enfermos y sanos, pertenecientes a la colección del laboratorio de herpetología UNAM campus Iztacala.

En total se tomaron 2 muestras por cada organismo para el aislamiento de las bacterias.

Las muestras se tomaron vía cutánea pasando un hisopo estéril sobre las ancas de los anfibios; previamente se efectuó la limpieza de esta zona con agua destilada, en aquellos organismos que presentaron substrato adherido (tierra o peat moss) a causa del encierro donde habiten.

4.2. Aislamiento.

La primera muestra una vez obtenida por medio del hisopo se introdujo en un tubo con tapón rosca que contenía 3 ml de caldo de tetrionato, el cual se incubó 24 hrs a 37° C; posteriormente las bacterias que crecieron se sembraron por estría en agar Salmonella - Shigella y se incubó por 24 hrs. A 37° C, para obtener los monocultivos.

La segunda muestra se colocó en un tubo de ensaye con 3 ml de medio de transporte en este caso se utilizó selenito, posteriormente estas muestras se sembraron en agares Eosin Metil Blue, Verde Brillante, Mc Conkey y Gelosa Sangre, estos se incubaron a 37° C por 24 hrs.

4.3 Identificación

Cada colonia que creció en los agares se tipificó en base a la morfología, colonial que presentó, tomándose en cuenta las siguientes características: color, borde (entero / ondulado), elevación, (cóncava / convexa), tipo de crecimiento (ameboide / circular / puntiforme), se calculó el porcentaje de cobertura, observando que espacio de la placa del agar cubrieron las colonias bacterianas, posteriormente se observó la morfología microscópica registrando si fueron cocos o bacilos, se

realizó la tinción de gram para clasificarlas en gram positivas y gram negativas.

Las colonias así obtenidas se identificaron por medio de las pruebas bioquímicas a que se les sometió, estas pruebas fueron: Citrato de Simmons, Lisina, Urea, Malonato, la técnica de Movilidad, indol, ornitina, la prueba de Rojo de Metilo- Voges Proskahuer, producción de ácido sulfhídrico y si fermentaron o hidrolizaron los carbohidratos, que en este caso fueron: Glucosa, Dulcitol, Manitol, Arabinosa, Lactosa y Sacarosa

En base a los resultados obtenidos de las pruebas bioquímicas y características coloniales se procedió a la identificación de cada colonia por medio de tablas de determinación bacteriológica (Lennette, 1992; McFaddin, 1993 y Scalan, 1996).



Toma de muestra de la piel de las extremidades posteriores de anfibios sanos y enfermos.

Género Bacteriano/ Prueba Bioquímica	<i>Escherichia</i> , et. al.	<i>Aeromonas</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Proteus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Providencia</i>	<i>Serratia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Arizona</i>	<i>Shigella</i>	<i>Hafnia</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Ewingella</i>	<i>Morganella</i>	<i>Tatumella</i>
	Lactosa	+	+	+	-	-	+	-	V	V	+	+	+	+	V	V	-
Sacarosa	V+	+	+	V	-	+	V+	+	V	-	+	V+	+	-	-	-	-
Dextrosa		-					+										
Arabinosa	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	V	+	+	-	-	-	-
Manitol	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	V-	+	+	+	+	-	-
Dulcitol	+	-	-	-	V		-	-	V	+	V-	-	V				
Urea	-	-	V	+	-	-	V	V	-	-	-	+	V	-	-	-	-
Malonato	-	-	V		-			-	V					-	-	-	-
MR	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	V	V	V				-
VP	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+		+	-	-
Movilidad	+	+	+	+	+	+		+	+	V	-	+	-	+	V	+	-
Indol	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	V	-	-	-	-	+	
Ornitina	V+	-	+	V	+	-	V	+	V	+	V	+	-	-	-	+	-
H ₂ S	-	V	-	+	+	+		-	V+	+	-	-	-		-	-	-
(K) Glu						V+	+							-			
(K) Lac	+	+	+	-	-	V											
(K) Gas	+	+	+	V+	+			V+	+	+	-	+	+	-	-	V	
(K) H ₂ S	-	V	-	+	+	+		-	V+	+	-	-	-		-	-	-
Lisina	+	-	V	-	+	-	-	+	-						-	-	
Citrato de Simmons	-	-	+	V	+	-	+	+	+	+	-	V	+	V			

Tabla A, para identificación de los géneros bacterianos a partir de las pruebas bioquímicas empleadas

5. RESULTADOS

Se trabajó con 45 anfibios anuros pertenecientes a 6 familias; Bufonidae, representada por 4 especies; Hylidae, representada por 7 especies; Leptodactylidae, con 1 especie; Pelobatidae; con 1 especie; Pipidae, con 1 especie y Ranidae, representada por 3 especies (Apéndice I); de los cuales 33 estaban clínicamente sanos, 10 presentaban signos de aeromoniasis, uno presentaba inapetencia y otro mostraba crecimientos tumorales en el cuerpo, al parecer de origen viral (Tabla 1).

A partir de los muestreos realizados en estos individuos, se encontraron 17 géneros bacterianos identificados a partir de las tablas referidas en la literatura (Tabla A, metodología). Las bacterias que se aislaron de un mayor número de individuos (Tabla 2), corresponden a *Salmonella* (34 ejemplares), *Citrobacter* (30) *Shigella* (27); *Arizona* (25); *E. coli* (24) y *Alcaligenes* (22) Los géneros que aparecieron en un menor número de individuos fueron, *Enterobacter* (7 ejemplares), *Proteus* (5), *Hafnia* (3) y *Pseudomonas* y *Ewingella* de un ejemplar cada uno. La incidencia de aparición para el total de los organismos muestreados refiere a *Salmonella* (77.77 %), *Citrobacter* (66.66 %), y *Shigella* (60%), como los valores mas altos, así como los valores más bajos corresponden a *Proteus* con una incidencia de 11.11%, *Hafnia* con 6.66% y *Pseudomonas* y *Erwingella* con 2.22% de incidencia de aparición respectivamente (Fig. 1-A).

Para el caso de los organismos clínicamente sanos, la incidencia señala a *Salmonella* con 80 %, *Citrobacter* 65.71 % y *Shigella* con 62.85 % como los valores mas altos, mientras que los más bajos están representados por *Hafnia*, *Proteus*, *Enterobacter* y *Aeromonas* con 8.57 % y *Erwingella* y *Pseudomonas* con 2.85%, respectivamente (Fig. 1 -B).

Los organismos con signología de pata roja mostraron los valores mas altos para *Alcaligenes* con 81.81 %, mientras que, *Citrobacter*, *Salmonella* y *E. coli* presentaron 63.63 % cada uno; los valores más bajos están representados por *Morganella*, *Providencia* y *Pseudomonas* con 9.09 %, para el caso de *Aeromonas* se tuvo una incidencia de 54.54 % (Fig. 1 -B)

La frecuencia relativa de aparición para el total de los organismos muestreados, nos indica un comportamiento parecido al de incidencia, refiriéndonos los valores mas altos para *Salmonella* (14.58 %), *Citrobacter* (12.5%), *Shigella* (11.25%), *Arizona* (10.41%), *E. coli* (9.16%),

y *Alcaligenes* (9.16%) mientras que los géneros *Enterobacter* (2.91%), *Proteus* (2.08%) *Hafnia* (1.25%) y *Pseudomonas* y *Ewingella* (0.41%) presentaron los valores más bajos. *Aeromonas* presentó un 17.77% (Fig. 2-A).

En los organismos clínicamente sanos, las frecuencias relativas de aparición más altas indican a *Salmonella* con 15.38%, *Citrobacter* con 12.82 %, y *Shigella* con 12.30 %, mientras que las frecuencias más bajas están representadas por *Hafnia* con 1.53%, *Erwingella* con 1.51 %, *Morganella* 1.02 % y *Pseudomonas* con 0, mientras que *Aeromonas* presentó un 3.58 % de frecuencia de aparición (Fig. 2 -B).

En los organismos con signología de pata roja, la frecuencia relativa de aparición refiere a *E. coli* (17.17 %), *Morganella* (13.13%) y *Citrobacter*, *Salmonella* y *Alcaligenes* con (11.11 %) respectivamente, como los valores más altos; los valores más bajos corresponden a *Tatumella* con 4.44 % *Providencia*, *Aeromonas* *Proteus* y *Pseudomonas* con 2.22 % , cada uno, mientras que *Hafnia*, *Klebsiella* , *Serratia* y *Erwingella* no se presentan (Fig. 2 -B).

Con la finalidad de tener una idea en la abundancia de los géneros bacterianos aislados se calculó la cobertura de crecimiento de c/u de cobertura de los géneros bacterianos para el total de los organismos muestreados señala en primer lugar a *E. coli* (90%), seguida por *Citrobacter* con 75% , *Salmonella*, *Shigella*, *Arizona*, *Tatumella* , *Klebsiella*, *Morganella* y *Enterobacter* con 70% cada una , como los valores más altos, mientras que los valores más bajos están representados por *Erwingella* (20 %) y *Pseudomonas* (10%), destacándose que *Aeromonas* presenta una promedio del 40 % de cobertura en cajas petri (Fig. 3-A; Apéndice III).

Para los organismos clínicamente sanos los promedios de cobertura más altas los presentaron *Salmonella* con 36.04 %, *E. coli* con 33.43 % y *Klebsiella* con 31.25 %, mientras que los valores más bajos los presentaron *Erwingella* con 20 %, *Enterobacter* con 17.5 % y *Aeromonas* con 10 % (Fig. 3-B; Tabla 5; Apéndice IV).

La cobertura en los organismos con signología de pata roja, presentó los valores más altos en *E. coli* 41.42 %, *Tatumella* 40 % y *Citrobacter* 37.14 %, los valores más bajos los presentan *Arizona* 13.33 %, *Morganella* y *Pseudomonas* con 10 % cada una, mientras que *Aeromonas*, presentó una media de cobertura de 25 % (Fig. 3- B; Tabla 5; Apéndice IV).

ESPECIE	CODIGO INDIVIDUAL	ESTADO CLINICO	TRATAMIENTO
<i>Bufo compactilis</i>	BC 3593	CS	
<i>Bufo marinus</i>	BM 1831	CS	
<i>Bufo marinus</i>	BM 1836	Ligera irrltación de miembros post.	Vitaminas+ Terramicina
<i>Bufo marinus</i>	BM 1837	CS	
<i>Bufo marinus</i>	BM 1838	Ligera irrltación de miembros post.	Vitaminas+ Terramicina
<i>Bufo marinus</i>	BM 1924	CS	
<i>Bufo marinus</i>	BM 2560	CS	
<i>Bufo marinus</i>	BM 2651	cS	
<i>Bufo marinus</i>	BM 2672	CS	
<i>Bufo marinus</i>	BM 2702	CS	
<i>Bufo marinus</i>	BM 2703	CS	
<i>Bufo marinus</i>	BM 3128	CS	
<i>Bufo marinus</i>	BM 3307	CS	
<i>Bufo sp</i>	BSP 3040	Ligera irrltación de miembros post.	Vitaminas+ Terramicina
<i>Bufo valliceps</i>	BV 2906	CS	
<i>Hyla eximia</i>	HE 3220	Ligera irrltación de miembros post.	Vitaminas+ Terramicina
<i>Hyla plicata</i>	HP 1	CS	
<i>Hyla plicata</i>	HP 2	CS	
<i>Hyla plicata</i>	HP 2798	CS	
<i>Hyla sp</i>	HSP 2656	Ligera irrltación de miembros post.	Vitaminas+ Terramicina
<i>Pachimedusa dacnicolor</i>	PD 2643	CS	
<i>Pachimedusa dacnicolor</i>	PD 3035	CS	
<i>Pachimedusa dacnicolor</i>	PD 3036	CS	
<i>Pachimedusa dacnicolor</i>	PD 3061	CS	
<i>Pachimedusa dacnicolor</i>	PD 3397	CS	
<i>Ohrynohyas venulosa</i>	PV 1664	CS	
<i>Ohrynohyas venulosa</i>	PV 1665	Presenta verrugas en el cuerpo	Ninguno
<i>Smilisca baudini</i>	SB 2250	CS	
<i>Tripion petasatus</i>	TPS 1465	CS	
<i>Ceratophrys sp</i>	CSP 3048	Inapetencia	Vitaminas
<i>Spea hammondi multiplicata</i>	SHM 3	Ligera irritación en miembros post.	Vitaminas +Terramicina
<i>Spea hammondi multiplicata</i>	SHM 2006	Ligera irritación en miembros post.	Vitaminas +Terramicina
<i>Spea hammondi multiplicata</i>	SHM 3280	Ligera irritación en miembros post.	Vitaminas +Terramicina
<i>Spea hammondi multiplicata</i>	SHM 3281	CS	
<i>Xenopus laevis</i>	XL 2715	CS	
<i>Rana berlandieri</i>	RB 2973	CS	
<i>Rana berlandieri</i>	RB 2974	Ligera irritación en miembros post.	Vitaminas +Terramicina
<i>Rana berlandieri</i>	RB 3308	CS	
<i>Rana montezumae</i>	RM 2679	Ligera irritación en miembros post.	Vitaminas +Terramicina
<i>Rana montezumae</i>	RM 3445	CS	
<i>Rana montezumae</i>	RM 3645	CS	
<i>Rana sp</i>	RSP 2079	Ligera irritación en miembros post.	Vitaminas +Terramicina
<i>Rana sp</i>	RSP 2677	CS	
<i>Rana sp</i>	RSP 3644	CS	

Tabla 1.- Estado clínico de los organismos muestreados. CS= clínicamente sanos

GENEROS BACTERIANOS	Salmonella	Citrobacter	Shigella	Arizona	E. Coli	Alcaligenes	Providencia	Tatumella	Klebsiella	Serratia	Morganella	Aeromonas	Enterobacter	Proteus	Hafnia	Pseudomonas	Erwingella
ESPECIE MUESTREADA																	
(# DE EJEMPLARES)																	
<i>Bufo compactilis</i> (1)	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Bufo marinus</i> (12)	12	8	5	7	7	2	2	3	2	5	1	1	1	4	1	0	0
<i>Bufo sp</i> (1)	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>Bufo valliceps</i> (1)	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hyla eximia</i> (1)	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Hyla plicata</i> (3)	1	1	2	2	2	1	2	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>Hyla sp</i> (1)	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0
<i>Pachimedusa dacnicolor</i> (6)	6	6	3	1	1	1	1	0	5	0	1	0	1	0	2	0	0
<i>Phrynohyas venulosa</i> (2)	2	2	2	2	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Smilisca baudini</i> (1)	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Tripion petasatus</i> (1)	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Cerathophrys sp</i> (1)	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Spea hammondi multiplicata</i> (4)	1	3	4	2	4	3	0	2	0	0	0	2	2	0	0	0	0
<i>Xenopus laevis</i> (1)	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>Rana berlandieri</i> (3)	2	2	3	3	1	3	1	0	1	0	1	2	2	0	0	0	0
<i>Rana montezumae</i> (3)	3	2	1	2	1	3	1	1	1	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Rana sp</i> (3)	2	3	1	3	1	3	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0

Total de individuos que lo presentan

34	30	27	25	24	22	12	14	10	9	8	9	7	5	3	1	1
----	----	----	----	----	----	----	----	----	---	---	---	---	---	---	---	---

TABLA 2 .- Presenta el número de individuos, por especie, de los cuales se asilaron los diferentes géneros bacterianos(CS= Clínicamente sanos)

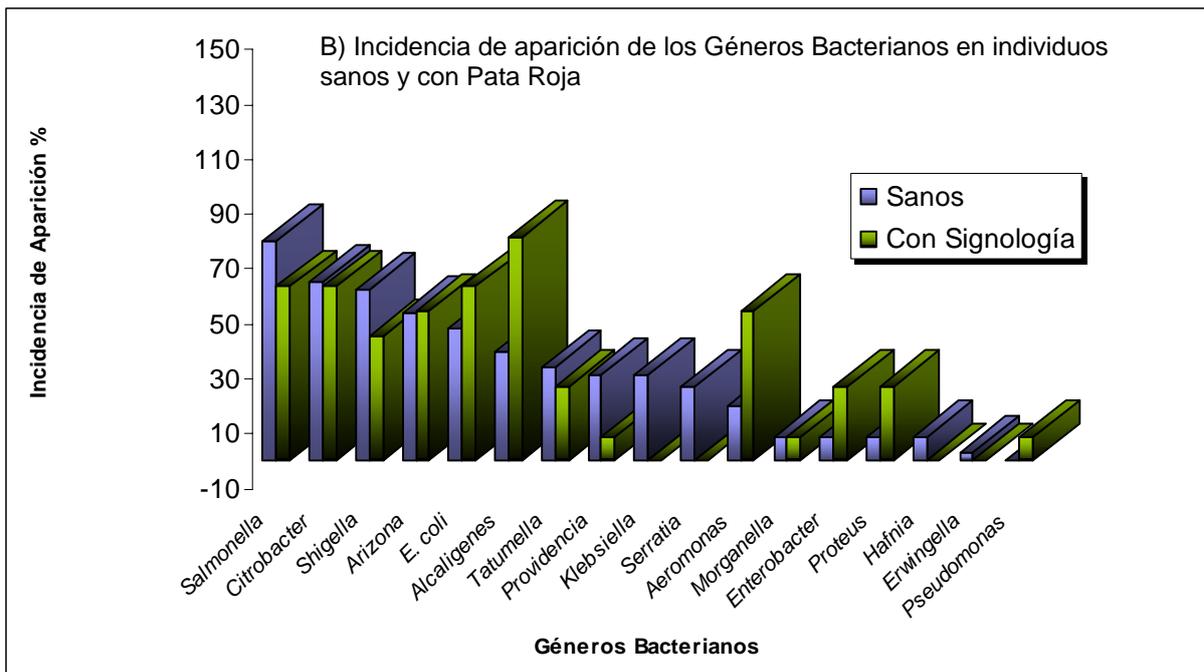
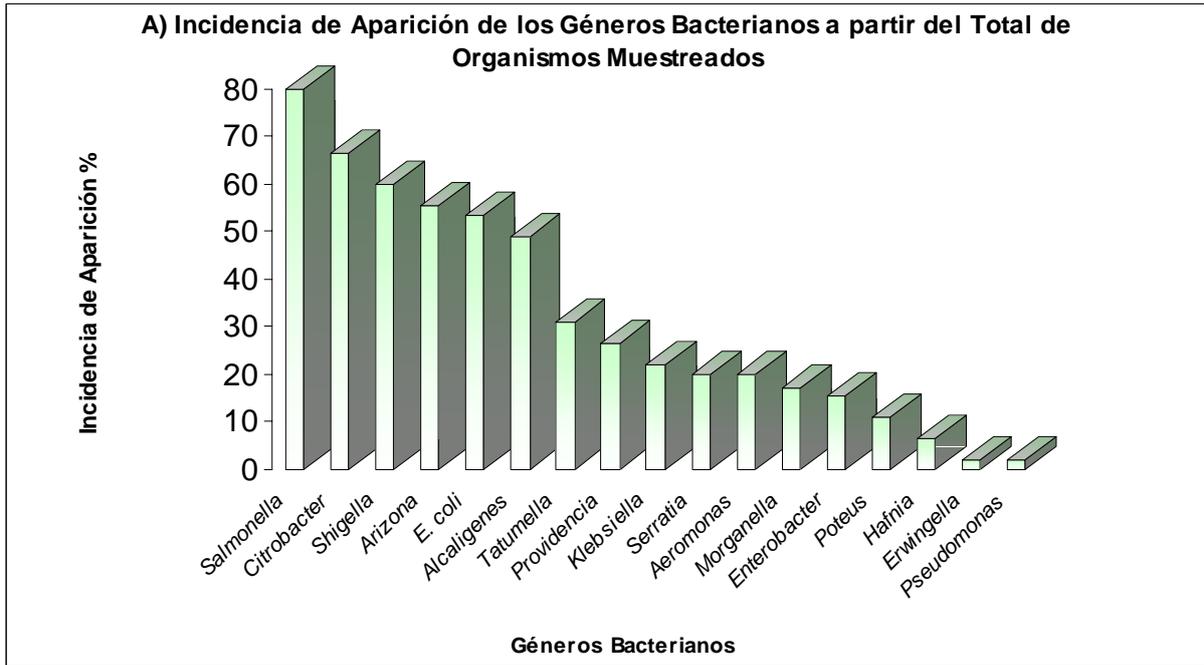


Figura 1.- Incidencia de Aparición de los Géneros Bacterianos en:
 A) Total de Organismos Muestreados y B) Organismos Clínicamente Sanos y con Signología de Pata Roja.

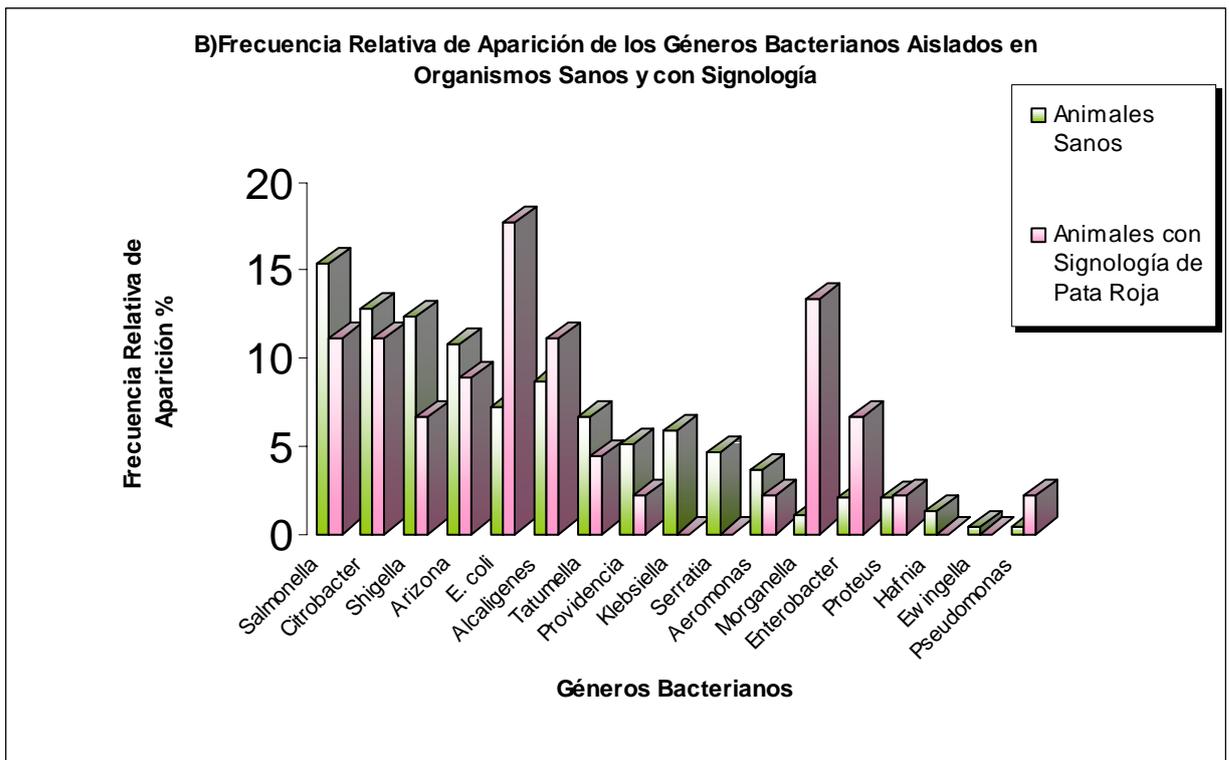
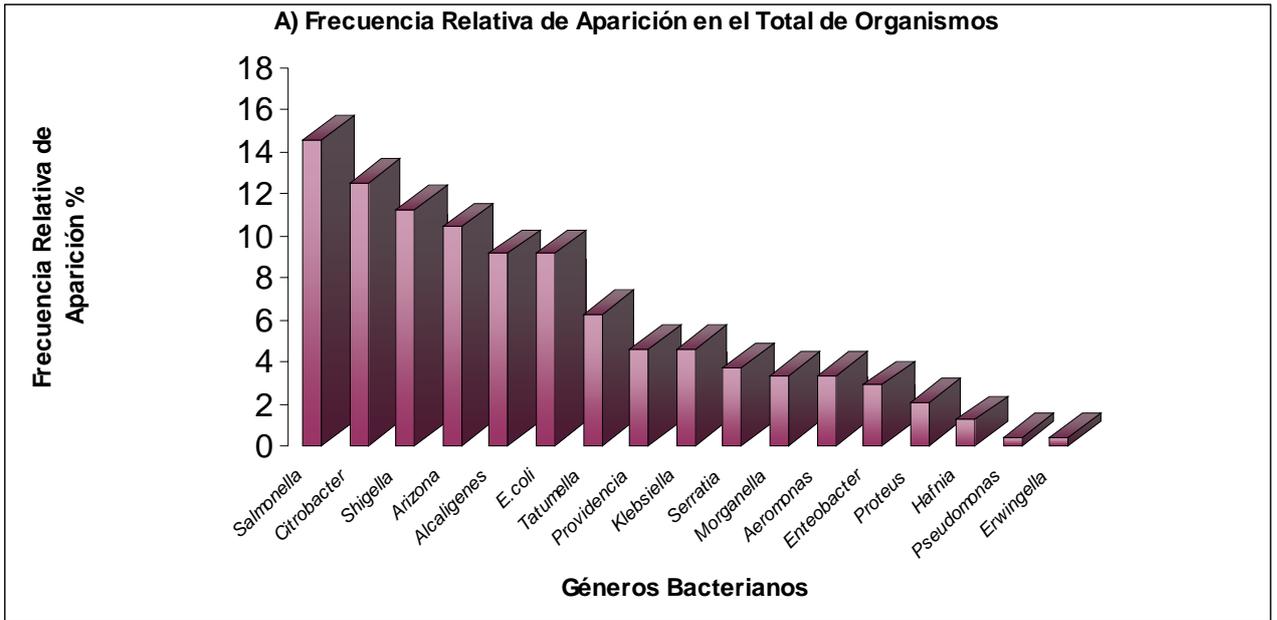


Figura 2.- Frecuencia relativa de aparición de los géneros bacterianos en: A) Total de los organismos muestreados, B) Organismos clínicamente sanos y organismos con signología de Pata Roja .

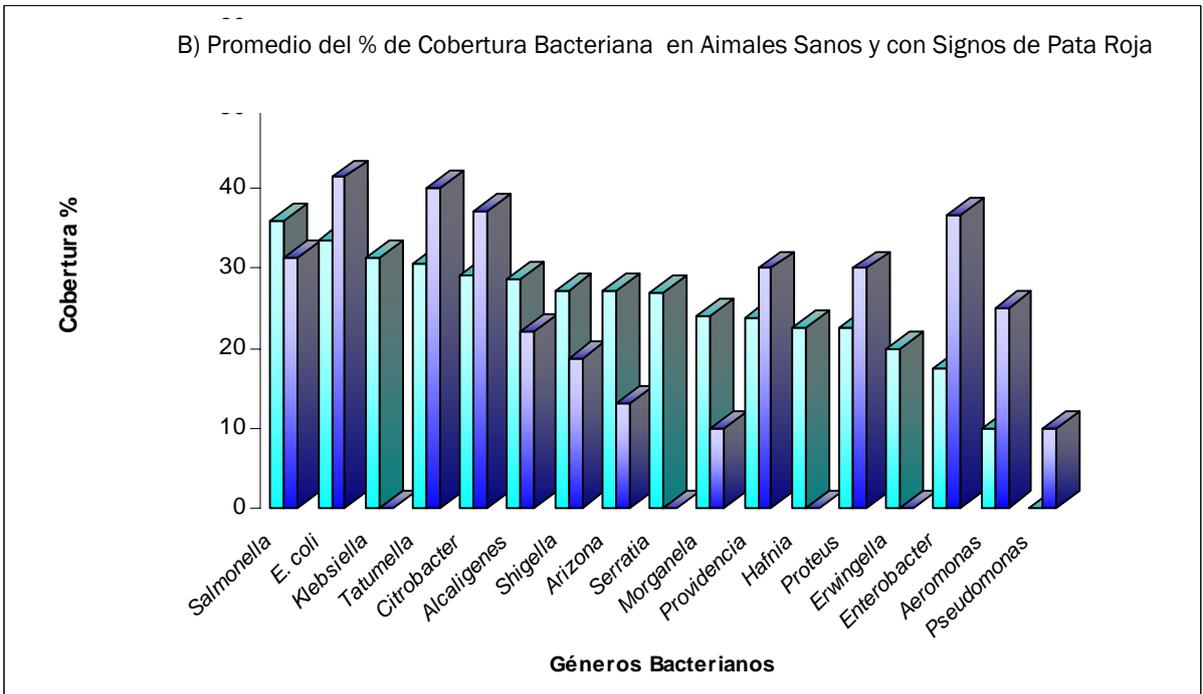
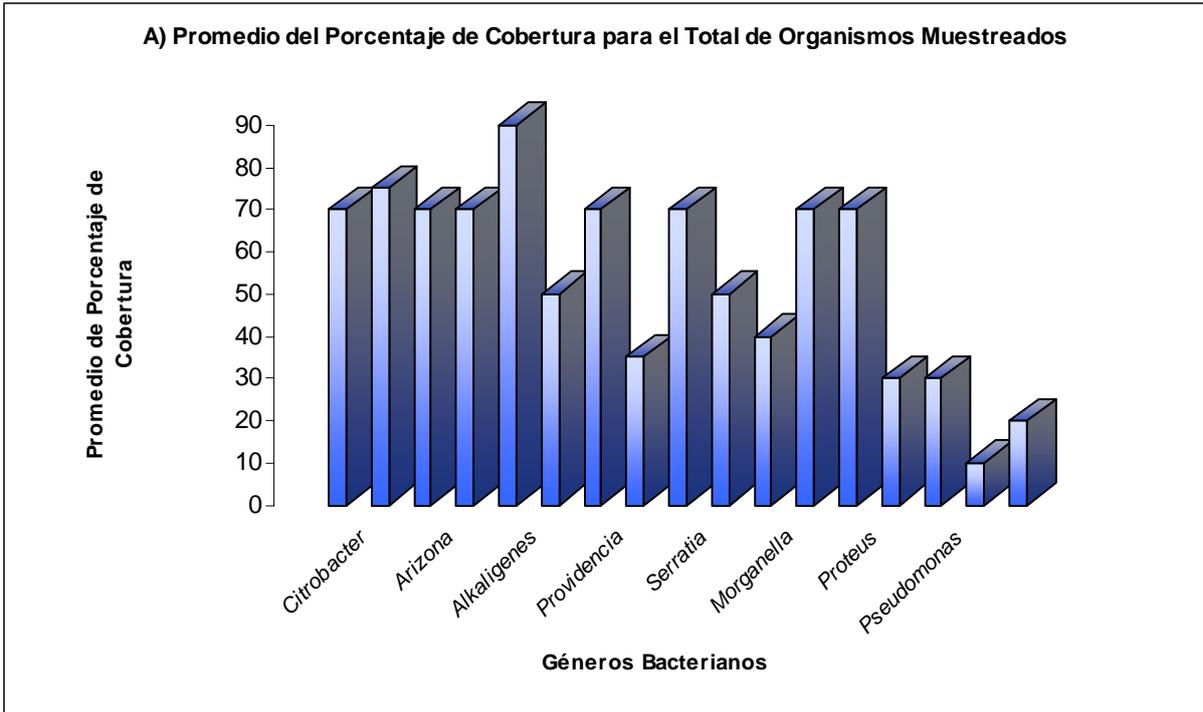


Figura 3.- Promedio de cobertura de los géneros bacterianos en: Total de los organismos muestreados (A) y Organismos clínicamente sanos y con signología de pata roja (B).

Género Bacteriano	Animales Sanos %	Animales con Signología %
<i>Salmonella</i>	36.04	31.43
<i>E. coli</i>	33.43	41.42
<i>Klebsiella</i>	31.25	0.00
<i>Taumella</i>	30.55	40.00
<i>Citrobacter</i>	29.25	37.14
<i>Alcaligenes</i>	28.63	22.22
<i>Shigella</i>	27.18	18.75
<i>Arizona</i>	27.10	13.33
<i>Serratia</i>	26.87	0.00
<i>Morganella</i>	24.00	10.00
<i>Providencia</i>	23.75	30.00
<i>Hafnia</i>	22.50	0.00
<i>Proteus</i>	22.50	30.00
<i>Ewingella</i>	20.00	0.00
<i>Enterobacter</i>	17.50	36.66
<i>Aeromonas</i>	10.00	25.00
<i>Pseudomonas</i>	0.00	10.00

Fig. 5.- Porcentaje de Cobertura Bacteriana para Animales Sanos y con signos de Pata Roja.

La tabla 3 representa la incidencia de aparición de los géneros bacterianos, tomando solo en cuenta a las especies que contaban con 2 o más ejemplares; distinguiéndose que los valores mas altos los presentaron *Alcaligenes*, *Arizona* y *Salmonella*, en *Phrynohyas venulosa*, y todos los representantes del género *Rana*.

La frecuencia relativa de aparición de géneros bacterianos simultáneos en el total de los individuos muestreados, mostró que el mayor número de géneros bacterianos aislados en un individuo fue de 8, condición que únicamente se observó en un ejemplar, que en este caso correspondió a *Rana berlandieri*, mientras que el menor número de géneros bacterianos aislados en un individuo fue de 3 ejemplares, y lo presentaron : *Pachymedusa dacnicolor*, *Bufo marinus* y *Bufo compactilis*. Así mismo se puede apreciar que en 21 individuos se aislaron 5 géneros bacterianos diferentes, lo cuál representa el 46.66 % del total de individuos muestreados (Fig. 4 -A).

	<i>Bufo marinus</i> (12)	<i>Hyla plicata</i> (2)	<i>Pachimedusa dacnicolor</i> (6)	<i>Phynohyas venulosa</i> (2)	<i>Spea hammondi multiplicata</i> (2)	<i>Rana berlandieri</i> (3)	<i>Rana montezumae</i> (3)	<i>Rana sp</i> (3)
Incidencia %	10 50 100	10 50 100	10 50 100	10 50 100	10 50 100	10 50 100	10 50 100	10 50 100
Géneros Bacterianos								
<i>Salmonella</i>	100	50	100	100	50	100	100	100
<i>Citrobacter</i>	50							
<i>Shigella</i>	25	25	50	100	100	25	25	25
<i>Arizona</i>	40	100	10	100	50	100	100	100
<i>E. coli</i>	60	100	10	50	100	60	60	60
<i>Alcaligenes</i>	10	50	10	100	80	100	100	100
<i>Tatumella</i>	10				50		10	50
<i>Providencia</i>	10	100	10	50		10	10	
<i>Klebsiella</i>	10		80	50		10	10	10
<i>Serratia</i>	25	50	50					
<i>Aeromonas</i>	5				50	60	60	50
<i>Morganella</i>	5		10			10		
<i>Enterobacter</i>	5				50	60		
<i>Proteus</i>	25							
<i>Hafnia</i>	5							
<i>Ewingella</i>	5							
<i>Pseudomonas</i>								

Tabla 3.- Presenta la incidencia de Aparición de los Géneros Bacterianos Aislados en aquellas especies que presentan más de un ejemplar. Entre paréntesis, número de ejemplares por especie muestreada.

Para los individuos clínicamente sanos la frecuencia de aparición de géneros simultáneos, refiere que un 32% de los individuos presentó 5 géneros simultáneos, mientras que el organismo que presentó mas géneros simultáneos fue 8 (Fig. 4-B).

Para los individuos con signología de pata roja, también la mayoría de los organismo presentaron 5 géneros bacterianos simultáneos, esto es un 72 %, mientras que solo un individuo presentó 7 géneros simultáneos (Fig. 4 -C).

Los porcentajes de cobertura en cajas petri de cada género bacteriano, por cada especie de anfibio (Tabla 4), señala que los géneros que presentaron los valores mas altos fueron, *E. coli* con 90 % y *Citrobacter* con 75%; *Salmonella*, *Shigella*, *Arizona*, *Tatumella*, *Klebsiella*, *Morganella* y *Enterobacter*, tuvieron un 70 %, respectivamente, mientras que los porcentajes más bajos los mostraron *Providencia* y *Hafnia* con 30%, *Ewingella* con 20 % y *Pseudomonas* con un 10%.

En la comparación de los promedios de cobertura entre los animales clínicamente sanos y enfermos (Tabla 5) se hace notar que los géneros bacterianos con mayor promedio, se aislaron de los animales enfermos, como es el caso de *E. coli* (41.42), *Citrobacter* (37.14) y *Enterobacter* (36.66) , mientras que para los animales sanos estas mismas bacterias tuvieron un promedio de *E. coli* (33.43) *Citrobacter* (29.25) y *Enterobacter* (17.5) . Por otra parte los géneros bacterianos con promedios mas bajos para animales enfermos fueron *Arizona* con 13.13, *Pseudomonas* y *Morganella* con 10 cada una, en los animales sanos, estas mismas bacterias presentaron para *Arizona* (27.1) *Morganella* (24) y *Pseudomonas* no se presentó.

La tabla 6 muestra las bacterias que se aislaron a partir de los individuos con signología de pata roja, destacándose aquellos que presentaron *Aeromonas*.

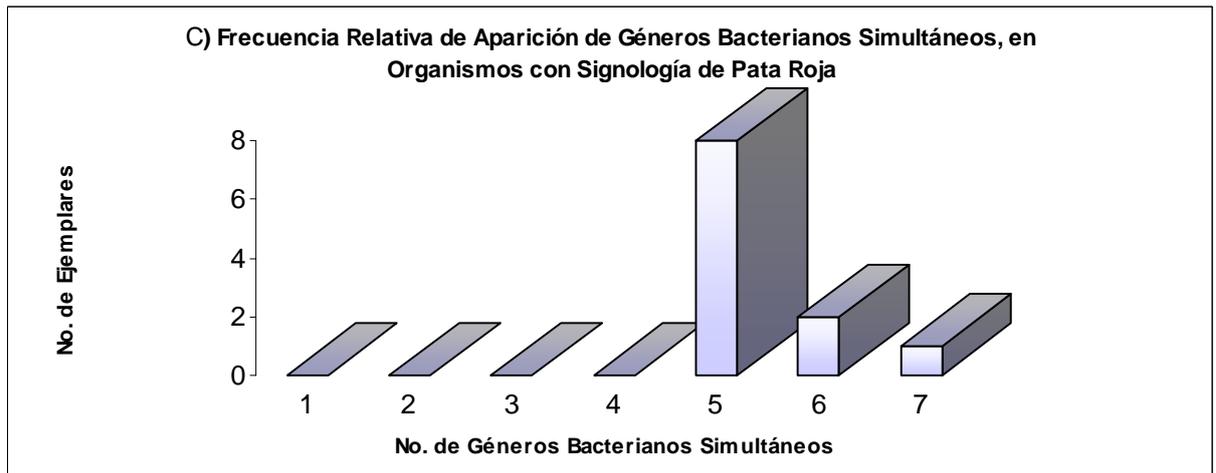
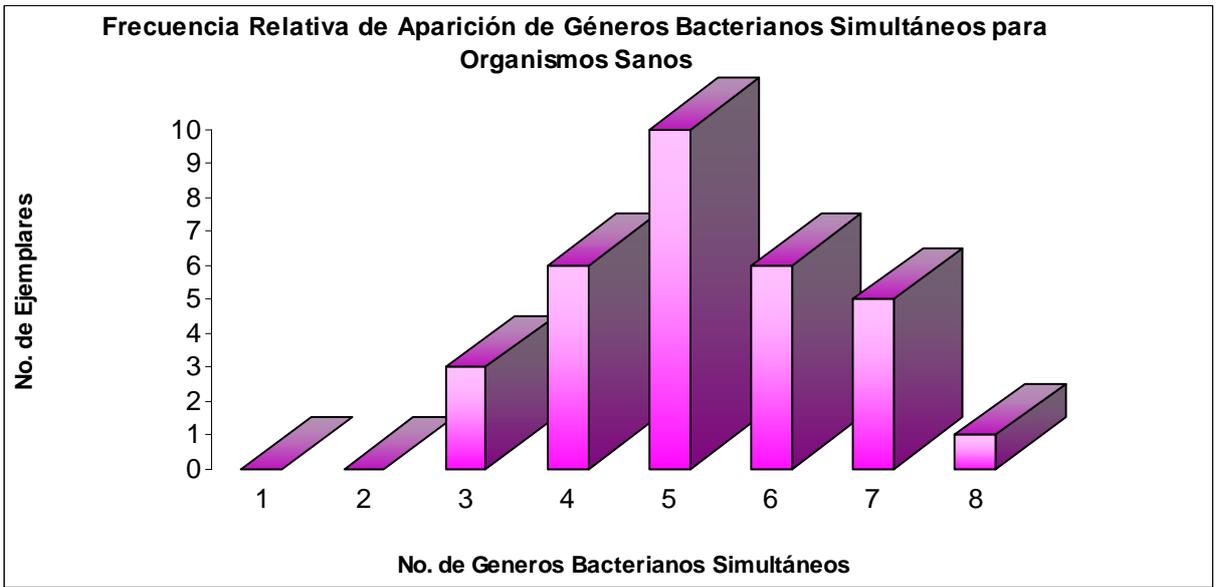
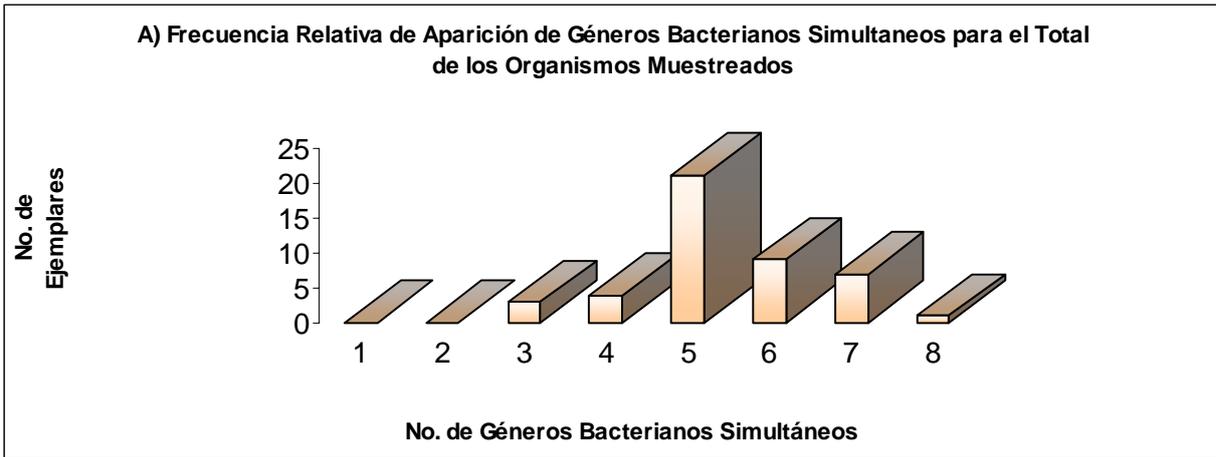


Figura 4.-Frecuencia de Aparición de Géneros Bacterianos de Aparición Simultánea para: Total de los organismos muestreados (A), Organismos Clínicamente Sanos (B) y Organismos con Signología de Pata Roja (C)

ESPECIE MUESTREADA	Salmonella	E.coli	Enterobacter	Klebsiella	Citrobacter	Morganella	Tatumella	Arizona	Proteus	Providencia	Alcaligenes	Hafnia	Shigella	Serratia	Ewingella	Aeromonas	Pseudomonas
(# de individuos)																	
<i>Bufo compactilis</i> (1)	50	0	0	0	30	0	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Bufo marinus</i> (12)	37.91	26.42	5	25	38.30	30	45	28.57	8.33	22.50	30	15	47	20	0	0	0
<i>Bufo sp</i> (1)	20	20	30	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	10	0
<i>Bufo valliceps</i> (1)	20	30	0	0	0	0	15	30	0	30	0	0	20	10	0	0	0
<i>Hyla eximia</i> (1)	0	70	0	0	0	10	80	0	0	0	20	0	10	0	0	0	0
<i>Hyla plicata</i> (3)	40	50	0	0	20	0	20	25	0	0	40	0	30	15	0	0	0
<i>Hyla sp</i> (1)	0	0	0	0	0	0	10	0	30	30	20	0	0	0	0	0	10
<i>Pachimedusa dacnicolor</i> (6)	80	15	30	35	20	70	25	20	0	0	10	60	20	0	0	0	0
<i>Phrynohyas venulosa</i> (2)	45	40	0	0	22.50	0	0	27.50	0	0	35	0	20	0	0	0	0
<i>Smilisca baudini</i> (1)	10	30	0	0	0	0	0	0	0	20	30	0	10	30	0	0	0
<i>Tripion petasatus</i> (1)	40	30	0	0	10	20	0	0	0	0	0	0	20	0	20	0	0
<i>Cerathophrys sp</i> (1)	40	0	0	0	40	0	30	0	0	30	0	0	10	0	0	0	0
<i>Spea hammondi multiplicata</i> (4)	45	40	40	0	33.33	0	25	0	0	0	0	0	21.25	0	0	20	0
<i>Xenopus laevis</i> (1)	60	0	0	0	0	10	25	20	0	0	0	0	30	20	0	0	0
<i>Rana berlandieri</i> (3)	45	30	40	10	30	10	0	23.33	0	30	40	0	30	0	0	15	0
<i>Rana montezumae</i> (3)	26.66	30	0	70	27.50	0	40	25	0	15	16.66	0	20	0	0	20	0
<i>Rana sp</i> (3)	70	90	0	0	11.66	0	15	21.66	0	0	20	0	30	0	0	20	0

TABLA 4.- Se indica el promedio del porcentaje de cobertura que presentaron los diferentes géneros bacterianos en las especies de los organismos muestreados.

BM 1836	BM 1838	BSP 3040	HE 3220	HSP 2656	SHM 3
<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Salmonella</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	<i>Tatumella</i>	<i>Citrobacter</i>
<i>Arizona</i>	<i>Arizona</i>	<i>E.coli</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Providencia</i>	<i>Arizona</i>
<i>E. coli</i>	<i>E. colo</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Tatumella</i>	<i>Proteus</i>	<i>E. coli</i>
<i>Proteus</i>	<i>Proteus</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Morganella</i>	<i>Pseudomona</i>	<i>Alcaligenes</i>
		<i>Enterobacter</i>			<i>Aeromonas</i>
					<i>Enterobacter</i>

SHM 2006	SHM 3280	RB 2974	RM 2679	RSP 2079
<i>Shigella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>
<i>E. coli</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Shigella</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Shigella</i>	<i>Arizona</i>	<i>Arizona</i>	<i>Arizona</i>
<i>Aeromonas</i>	<i>E. coli</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Alcaligenes</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Aeromonas</i>
	<i>Tatumella</i>			

Tabla 6.- Bacterias que se aislaron a partir de individuos con signología de pata roja. Señalándose aquellos organismos en los que se aisló *Aeromonas*

6. DISCUSIÓN

En los cultivos de las muestras obtenidas de los anfibios sanos y con signología de pata roja del laboratorio de herpetología, se encontraron diversos tipos de bacterias, tales como *Salmonella spp*, *Citrobacter spp*, *Shigella spp*, *Escherichia coli*, *Arizona spp*, *Alcaligenes spp*, *Tatumella spp*, *Providencia spp*, *Klebsiella spp*, *Serratia spp*, *Aeromonas spp*, *Morganella spp*, *Enterobacter spp*, *Proteus spp*, *Hafnia spp*, *Erwingella spp* y *Pseudomonas spp*; de las cuales la literatura reporta como patógenas para anfibios a *Aeromonas spp*, *Pseudomonas spp.*, *Providencia spp.*, *Citrobacter spp*, *Flavobacterium spp*, *Staphilococcus epidermis*, *Edwarciella spp*, *Mima spp* y *Acinetobacter spp* (Jacobson, 1984, Gibbs, 1963 y Hoff, 1984). Otras especies como *E. coli*, *Klebsiella spp*, *Proteus spp*, *Alcaligenes spp*, *Enterobacte spp*, *Hafnia spp*, *Tatumella spp* y *Serratia spp* también han sido aisladas de organismos con pata roja pero no se ha establecido su patogenicidad (Cunningham, 1996; Elkan, 1965; Fowler, 1986 y Van der Waaij, 1974).

En el caso especial del género *Salmonella*, se observa que tanto en incidencia de aparición, frecuencia relativa de aparición y porcentaje de cobertura en caja petri, tiene un comportamiento muy similar, ya que presenta los valores más altos en animales clínicamente sanos pero estos valores disminuyen considerablemente en los organismos con signología de pata roja; una conducta semejante la podemos observar en los reptiles, y específicamente en serpientes, como *Pituophis deppei deppei* (García, 1999), en las cuales se identificó la flora bacteriana presente en el tracto digestivo, y se observó a *Salmonella* con un comportamiento similar al reportado en este estudio. Son varios los trabajos en los que se señala a los anfibios, entre otros grupos de animales como transportadores, fuentes o receptáculos de *Salmonella* (Kourany, 1970; Sharma, 1974; Bartlett, 1977; Singh, 1979; Everard, 1979 y Trust, 1981 y Hoff, 1984). Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que *Salmonella* se está comportando como flora normal de anfibios y que, además, puede ser una bacteria indicadora de la salud de estos animales.

Otros géneros bacterianos que se comportaron de manera semejante a *Salmonella*, pero que sí son reportados como patógenos fueron *Escherichia coli*, *Proteus spp*, *Alcaligenes spp* y *Enterobacter spp* (Román, 1986; Bradford, 1991), los cuales tuvieron un disparo significativo en la incidencia en los animales con signología de pata roja, con respecto a los animales clínicamente sanos; en cuanto a frecuencia relativa de aparición, solamente *Alcaligenes* y *E. coli* fueron mas altos en los organismos con signos de pata roja, mientras que

Proteus spp, presentó un valor ligeramente mas bajo en los animales con signología que en los animales sanos.

En el caso particular de *E. coli*, se observó que es una bacteria que aparece tanto en animales enfermos como sanos. Los valores de incidencia de aparición fueron más altos en los animales enfermos; la conducta se repite para los valores de frecuencia relativa y porcentaje de cobertura; Son pocos los autores (Cunningham, 1996; Hoff, 1984 y Hubbard, 1981), que reportan aislamientos de *E. coli* en anfibios, y solo Hoff la menciona como parte de la flora normal del tracto digestivo, pero ninguno establece su intervención en la aeromoniasis. De acuerdo con los resultados obtenidos se puede suponer que *E. coli* se está presentando como un patógeno oportunista, actuando junto con otras bacterias, como *Alcaligenes*, *Aeromonas* y *Enterobacter*. Es muy probable que *E. coli* sea una bacteria que juega un papel importante en la aeromoniasis.

Alcaligénes es una bacteria que ha sido reportada como patógena para anfibios y aislada tanto en animales sanos como enfermos junto con *Aeromonas hydrophila* (Román, 1986 y Elkan, 1965); cuando los dos tipos bacterianos aparecen combinados, la enfermedad es más virulenta (Román, 1986). En el presente estudio *Alcaligénes* fue el género bacteriano que presentó el valor mas alto en los animales con signología de pata roja; la misma condición se presentó en la frecuencia relativa, en donde se puede apreciar que de los 11 animales que presentaron signología de pata roja, *Alcaligénes* estuvo presente en 9, y la combinación con *Aeromonas* se observó en 6 animales. Dos de los ejemplares que presentaron ambos patógenos y signología de aeromoniasis, murieron poco tiempo después del estudio.

Proteus es una bacteria reportada como patógena en la mayoría de los trabajos revisados, se le reporta presente frecuentemente en ajolotes y ranas, tanto enfermos de pata roja, como sanos (Carr, 1976; Brothers, 1977, citado en Duhon, 1989; Glorioso, 1974; Hubbard, 1981; Raphael, 1993 y Van Der Waaij, 1974). En la presente investigación presentó valores bajos en la incidencia de aparición para animales sanos, pero en los organismos con signología de pata roja, estos valores se disparan notoriamente; en el caso de la frecuencia, también se observan valores muy bajos, tanto para animales sanos como para animales con signología; en el porcentaje de cobertura, los valores para animales con signos, son ligeramente mas altos que para los sanos; por lo tanto, podemos suponer que aunque con valores relativamente bajos de incidencia, frecuencia y cobertura esta bacteria puede estar interviniendo en la enfermedad de la pata roja y, además, no podemos considerarla como parte de la flora normal de anfibios, puesto que la encontramos en muy pocos organismos.

Enterobacter fue una bacteria que como se puede observar en los resultados de Incidencia de aparición, frecuencia relativa y porcentaje de cobertura, presentó valores mucho más altos en los organismos con signología que en los sanos, lo que puede estar indicando que es una bacteria que se puede considerar patógena y que desempeña un papel importante en la aeromoniasis. Esta bacteria se ha aislado de anfibios que presentan pata roja, sin embargo, en muchos trabajos su patogenicidad no ha sido claramente establecida (Bradford, 1991; Carr, 1976; Cunningham, 1996; Gibbs, 1963; Bradford, 1974).

Por su parte, *Citrobacter* es una bacteria comúnmente aislada en animales enfermos (Cunningham, 1996; Gibbs, 1973; Cooper, 1978; Glorioso, 1974; Carr, 1976; Raphael, 1993); en el presente estudio se aisló tanto de animales sanos como de enfermos, y sus valores de incidencia son semejantes en ambos casos, este comportamiento también se puede observar en los valores de frecuencia relativa y porcentaje de cobertura; De acuerdo con estos resultados, es muy probable que *Citrobacter* no sea una bacteria patógena, o bien implicada en la aeromoniasis, si no que pudiera llegar a considerarse como parte de la flora normal.

De igual forma *Arizona* fue un género que presentó los mismos valores de incidencia en animales sanos y enfermos; en los valores de frecuencia de aparición son un poco más elevados en los organismos sanos, pero en el porcentaje de cobertura se observa un valor más alto en los animales con signología que en los sanos. Cabe mencionar que *Arizona* es una bacteria de la cual se tiene muy pocos reportes para anfibios, y como en la mayoría de los casos, no se ha establecido bien su patogenicidad (Ang, et al., 1973; Habermanz y Pietzch, 1973; Lie, 1968; Mathews, 1979, citado en Hoff, 1984 y Sharma, 1974); Los resultados de los muestreos del presente trabajo, sugieren que así como en el caso de *Citrobacter*, *Arizona* probablemente no esté implicada en la aeromoniasis y muy probablemente forme parte de la flora normal.

En cuanto a *Shigella*, es una bacteria que se aisló en un gran porcentaje del total de los organismos muestreados; Según se puede constatar en la incidencia de aparición, presentó valores mucho más altos para los organismos sanos que para los enfermos, lo mismo sucedió en la frecuencia relativa y en el porcentaje de cobertura, por lo cual podemos inferir que puede tratarse de una bacteria que no está actuando en la aeromoniasis como patógena, sino más bien sugiere que es parte de la flora normal. De esta bacteria solo se tiene un reporte, procedente del estudio realizado por Glorioso (1974), en donde fue aislada de renacuajos y ranas adultas de la especie *Rana catesbeiana*, con signos de pata roja, pero aun así fue considerada como bacteria no patógena.

Serratia sp ha sido reportada en trabajos de anfibios con pata roja, Glorioso (1974) y Carr (1976), la aislaron de *Rana catesbeiana*, pero no esclarecen su intervención en la enfermedad; Cunningham en 1996 la aisló de *Rana temporaria*, pero con una incidencia mínima; Se ha encontrado que las especies de *Rana pippiens* y *Bufo americanus*, pueden ser susceptibles a la infección de *Serratia* pero de manera experimental (Hoff, 1984); En el presente estudio, esta bacteria solo se aisló de animales sanos, y en bajo porcentaje de incidencia; En la frecuencia relativa, igualmente, su porcentaje es bajo, solo en el promedio de cobertura, tiene valores un poco mas altos, por lo tanto de acuerdo a lo antes mencionado, podemos inferir que *Serratia* es una bacteria no importante en la enfermedad de la pata roja, sin embargo, tampoco la podemos catalogar como flora normal, ya que se presentó en muy pocos organismos.

Con respecto a las especies *Ewingella* y *Tatumella*, no se encontraron reportes para anfibios ni enfermos ni sanos; En el presente estudio, *Ewingella* solo se aisló de un organismo, que no presentaba signos de pata roja, el hylido *Tripurion petasatus*, y fue una especie que presentó los valores más bajos junto con *Pseudomonas*, tanto en incidencia como en frecuencia y porcentaje de cobertura; *Ewingella* se ha aislado del tracto digestivo de serpientes como *Pituophis deppei deppei* (García, 1999). Para el caso de *Tatumella*, fue una bacteria que presentó valores ligeramente mas altos en los anfibios sanos, para el caso de Incidencia y frecuencia, mientras que para el caso de cobertura el valor mas alto se presentó en los organismos con signología de pata roja; De acuerdo con estos resultados, podemos inferir que es una bacteria que no necesariamente está interviniendo en la enfermedad, pero tampoco podemos afirmar que sea parte de la flora normal, ya que sus valores en comparación con las demás bacterias se mantuvo entre los más bajos, y no se encontraron referencias a la misma en la bibliografía.

En el caso de *Pseudomonas* se ha encontrado reportada en varios estudios sobre anfibios, en la mayoría de los casos los autores la reportan como patógena para este grupo de animales (Carr, 1976; Cunningham, 1996; Duhon, 1989; Glorioso, 1974; Raphael, 1993 y Van der Waaij, 1974). Se menciona que las infecciones por *Pseudomonas* causan la decoloración en la piel de los anfibios (Raphael, 1993). De acuerdo con las observaciones realizadas en el presente estudio, además de que *Pseudomonas* solo se presentó en un ejemplar del género *Hyla* y presentó los valores más bajos en frecuencia e incidencia de aparición, así como en el porcentaje de cobertura, podemos suponer que *Pseudomonas* aunque es una bacteria considerada patógena, no es interviene en la enfermedad de la pata roja e igualmente no forma parte de la flora normal.

Klebsiella, es una especie que ha sido reportada como patógena por algunos autores (Shotts, 1972 y Van der Waaij, 1974); otros la consideran como no patógena (Gloriosos,1974) y Carr (1976), no establece claramente su intervención en la pata roja, de acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación se puede observar que *Klebsiella* solo fue aislada de animales sanos; En comparación con los demás géneros bacterianos, su valor mas alto lo presenta en el porcentaje de cobertura, mientras que los valores de incidencia y frecuencia están dentro de los porcentajes bajos. Este comportamiento hace suponer que no es una bacteria causante de la Pata Roja, pero no se considera tampoco como parte de la flora normal de los anfibios, es una bacteria que esta presente en el medio donde habitan los organismos.

Providencia es una bacteria que ha sido reportada en animales con signología de pata roja, pero no se ha determinado su intervención en la enfermedad, ya que fue aislada de muy pocos organismos (Cunningham, 1996 y Van der Waaij, 1974). En los resultados obtenidos en la presente investigación, se observa que *Providencia* presentó valores mas altos en la incidencia y frecuencia de aparición en los animales sanos, no así en el porcentaje de cobertura, en donde el valor mas alto se encuentra en los animales con signología de Pata Roja; De acuerdo con estos resultados, podemos sugerir que *Providencia* es una bacteria que no está actuando como patógena y no podemos considerarla como parte de la flora normal, ya que de acuerdo a Van der Waaij (1974), puede estar presente en el medio que habitan los anfibios y entrar por el portal más común de los anfibios, que es la piel.

En el caso de *Hafnia*, solo se encontró reportada en un solo trabajo (Cunningham, 1996), en donde se refieren valores de incidencia bajos y no se determina sea causante de la Pata Roja; en el presente estudio *Hafnia* se reporta solo en los organismos sanos, y los valores de Incidencia, frecuencia y porcentaje de cobertura están entre los más bajos, por lo que se puede suponer que *Hafnia* es una bacteria que no es parte de la flora normal de los anfibios y que no tiene ninguna ingerencia en la enfermedad de la Pata Roja.

Morganella es una especie que se encontró reportada solo en un estudio (Cunningham, 1996), sin embargo, aunque fue aislada de animales enfermos de pata roja, no la mencionan como patógena; En los resultados obtenidos en este estudio, observamos que *Morganella* presenta los valores de frecuencia y porcentaje de cobertura más altos para los animales con signos de Pata roja, pero la incidencia de aparición es más alta en los animales sanos. Por lo tanto se puede suponer que *Morganella* spp no esta interviniendo directamente en la enfermedad.

La aeromoniasis debe su nombre a que en un principio la bacteria que se aisló de animales enfermos de pata roja, fue precisamente *Aeromonas hydrophila* y por lo tanto se le consideró responsable de esta enfermedad (Gibbs, 1973; Schlotter, 1981; Fowler, 1986; Dusi, 1949; Fliermans, 1977; Kulp, 1942); sin embargo, algunos autores la mencionan como parte de la flora normal de varias especies de anfibios (Kexel y Sschubert, 1967, citado en Shotts, 1994). En el presente estudio *Aeromonas* se aisló tanto de animales sanos como enfermos de pata roja; como podía esperarse, su valor en la incidencia de aparición, es mucho más alto en los animales con signología que en los sanos, ocurriendo lo mismo en el porcentaje de cobertura, pero no así en la frecuencia relativa, en donde *Aeromonas* mostró un valor ligeramente mas elevado en los organismos sanos que en los enfermos. Es muy probable que *Aeromonas* no sea parte de la flora normal de anfibios, pero que por ser un patógeno oportunista (Shotts, 1984; Duhon, 1989) y estar presente en el medio donde habitan los anfibios (Shotts, 1984), muy fácilmente la pueden contraer, llegando a formar asociaciones con otras bacterias tales como *Alcaligenes* y *Escherichia coli*, por ejemplo, las cuales son reportadas como patógenas para los anfibios (Román, 1986; Hoff, 1984).



7. CONCLUSIONES

1. Se aislaron 17 géneros bacterianos presentes en la piel de los anfibios estudiados correspondientes a: *Salmonella spp*, *Citrobacter spp*, *E. coli*, *Alcalígenes spp*, *Enterobacter spp*, *Aeromonas spp*, *Shigella spp*, *Ewingella spp*, *Hafnia spp*, *Pseudomonas spp*, *Arizona spp*, *Tatumella spp*, *Morganella spp*, *Enterobacter spp*, *Providencia spp*, *Proteus spp* y *Serratia spp*.
2. De los géneros bacterianos aislados en el presente trabajo, *E. coli*, *Alcalígenes spp* y *Enterobacter spp*, se puede considerar que son parte de la flora normal de los anfibios, pero que además intervienen de manera significativa en la enfermedad de la pata roja.
3. Los géneros bacterianos *Proteus spp* y *Aeromonas spp*, no se pueden considerar flora normal de los anfibios e intervienen de manera significativa en la enfermedad de la pata roja.
4. Los géneros bacterianos *Salmonella spp*, *Citrobacter spp*, *Arizona spp* y *Shigella spp* se pueden considerar parte de la flora normal de los anfibios, sin intervención en la enfermedad de la pata roja.
5. Los géneros bacterianos *Serratia spp*, *Ewingella spp*, *Tatumella spp*, *Klebsiella spp*, *Pseudomonas spp*, *Providencia spp*, *Hafnia spp* y *Morganella spp*, no están interviniendo en la enfermedad de la pata roja, y al parecer no son parte de la flora normal, son solo habitantes del lugar donde viven los anfibios.
6. El género *Salmonella spp*, se presenta como parte de la flora normal de la piel de los anfibios, y se ve afectada por la presencia de la pata roja, ya que cuando los organismos presentan signos de la enfermedad sus valores disminuyen.
7. De acuerdo a los resultados obtenidos, la enfermedad de la pata roja se asocia con la presencia de las bacterias *Escherichia coli*, *Alcalígenes*, *Proteus*, *Enterobacter* y *Aeromonas hydrophila*, sin que se pueda considerar a esta última como la responsable exclusiva o más importante de esta afección.

8.- LITERATURA CITADA

- Bartlett, H., T. Trust. Y H. Lior. 1977. Small pet aquarium frogs as a source of *Samonella* . Applied. Environmental. Microbiology.33(5): 1026-1029.
- Bioxon , Manual de Bacteriologia .66-67 pp
- Boyer, C. I., K. Blackler y L. E. Delaney. 1971. *Aeromonas hydrophila* Infection in The Mexican Axolotl, *Siredon mexicanus*. Lab. Anim. Sci., 21 (3): 372-375.
- Bradford, D. F. 1991. Mass Mortality and Extinction in a High-Elevation Population of *Rana mucosa*. Journal of Herpetology, 25 (2): 174-177
- Campbell, T. 1995. Amphibian Husbandry and Medical Care Exotic Animal. A Veterinary Handbook, collection of Articles from Veterinary Technician. Veterinary Learning System, New Jersey 14 (10): 156-160.
- Carr, H. A., R. L. Amborski., D. D. Culley y G. F. Amborski., 1976. Aerobic Bacteria in the Intestinal Tracts of Bullfrogs (*Rana catesbeiana*) maintained at Low Temperatures. Herpetológica, 32 (3): 239-244.
- Colt, J., K. Orwicz y D. Brooks. 1984. Gas Bubble Disease in the African Clawed Frog, *Xenopus laevis*. Journal of Herpetology 18 (2): 131-137.
- Constantino Casas, F., A. Armijo Ortiz., D. Osorio Sarabia y L. Chávez Soriano. 1997. Infección por *Aeromonas Hydrophila* e *Ichthyophthirius multifiliis* en trucha (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) y tilapia (*Oreochromis aureus*, L) de un centro de acopio de Morelos, México. Estudio Patológico. Vet. Mex. 28(1): 59-61 pp
- Cooper, J. E., J. R. Needham y J. Griffin. 1978. A Bacterial Disease of the Darwin's Frogs (*Rhinoderma darwini*). Lab. Anim. 12: 91-93.
- Crashaw, G. J.1993. Amphibian Medicine. En Fowler, M: E. Zoo and Wild Animal Medicine, current therapy 3 . 131-139
- Cunningham, A. A., T. E. S. Langton., P. M. Bennet., J. F. Lewin., S. E. N. Drury., R. E. Gough y S. K. McGregor. 1996. Pathological and Microbiological Findings from Incidents of Unusual Mortality of the Common Frog (*Rana temporaria*). Vet. Rec. 133: 1539-1551 .
- Duhon, S. 1989. Diseases of Axolotls. In Developmental Biology of the Axolotl. John, B. Armstrong, Oxford University Press, New York. 265-269.
- Dusi, J. L. 1949. The Natural Occurrence of "Red Leg", *Pseudomonas hydrophila*, in *Pseudomonas hydrophila*, In a Population, of American Toads, *Bufo americanus*. Ohio Natural Science. 49(2): 70 - 71.
- Elkan, E. 1974. Physiology of Amphibian . Academic Press New York. Vol . III. 273- 281.
- Esterabadi, A. H., F Entessar y M. A. Khan. 1972. Isolation and Identification of *Aeromonas hydrophila* from an Outbreak of a Haemorrhagic Septicemia in Snakes. Can. J. comp. Med. (37): 418-41.
- Fliermans, C. B., R. W. Gorden., T. C. Hazen., y G. W. Esch, G. W. 1977. *Aeromonas* Distribution and Survival in a Thermally Altered Lake. 33 (1): 114-122.

- Fowler, M. E. 1986. Amphibian Medicine, in Fowler, M. E. (Ed.): Zoo and Wild Animal Medicine. 100-105.
- García, R. 1999. Características de la flora bacteriana del tracto digestivo bajo la presencia de *Entamoeba invadens* en una colonia de *Pituophis deppei deppei* (Reptilia; Squamata; Serpientes; Colubridae) en cautiverio. Tesis para obtener el título de biólogo. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Edo. de México. 1999.
- Gibbs, E. L., G. W. Nace y M. B. Emmons. 1971. The Live Frog Is Almost Dead. *Bioscience* 21 (20): 1027-1034 pp
- Gibbs, E. L. 1963. An Effective Treatment for Red Leg_ Disease in *Rana pipiens*. *Lab. Anim. C.* 13 (6): 781-783.
- Gibbs, E. L., 1973. *Rana pipiens*: Health and Disease- How Little We Know. *Amer. Zool.* (13): 93-96.
- Glorioso, J.C., R. L. Amborski., G. F. Amborski y D. D. Culley. 1974. Microbiological Studies on Septicemic Bullfrogs (*Rana catesbeiana*.) *J. Vet. Res.* 35 (9): 1241-1245.
- Green, S. L., D. M. Bouley., R. J. Tolwni., K. S. Waggle., B. D. Lifland., G. M. Otto., Jr. Ferrel y E. James. 1999. Identification and management of an outbreak of *Flavobacterium meningosepticum* infection in a colony of South Africa clawed frogs (*Xenopus laevis*). *JAVMA*, 214 (12): 1833-1838.
- Herrlein, H. G. 1954. Amphibians diseases. In guidelines of the breeding, care and management of laboratory animals. A Report of the subcommittee on amphibian, on standards, Institute of Laboratory Animal Resources. National Academy of Sciences Washington Dc. 116-128.
- Hird, D. W., S. L. Diesh., R. G. McKinell., E. Gorham., F. B. Martín ., S. W. Kurtz., y C. Dubrovlny. 1981. *Aeromonas hydrophila* in Wild Caught Frogs and Tadpoles (*Rana pipiens*) In Minnesota, *Lab. Anim. Sci.* 31 (2): 166-169.
- Hoff, G. L. 1984. *Serratia* in. G. L. Hoff, F. L. Frye, and E. R. Jacobson (Eds.) *Diseases of Amphibians and Reptiles*. Plenum Press. N. Y., 59-67.
- Hoff, Gerald I y D. M. Hoff. 1984. *Salmonella y Arizona*. in G. L. Hoff, F. L. Frye, and E. R. Jacobson (Eds.) *Diseases of Amphibians and Reptiles*. Plenum Press. N. Y., 69-77.
- Hubbard, G. 1981. *Aeromonas hydrophila* infection in *Xenopus laevis* *Laboratory Animal Science.* 31(3): 297- 300.
- Jacobson, E. 1994. Veterinary Procedures of Captive –Bred Herpetofauna on J. B. Murphy and J. T. , et. al. (Eds.) *Captive Management and Conservation of Amphibians and Reptiles*. Society for Study of Amphibians and Reptiles, New York, 109-118.
- Jacobson, E. R. (1984). *Pseudomonas* in. G. L. Hoff; F. L. Frye and E. R. Jacobson, (Eds.) *Diseases of Amphibians and reptiles*. Plenum Press. New York, U. S. A., 37-45.

- Kulp, W.R. y D. G. Borden. 1942. Further Studies on *Proteus hydrophilus*, The Etiological Agent in Red Leg, disease of Frogs. J. Bacteriol. (44): 673-685.
- Kourany, M., C. Myers y C. Schneider. 1970. Oanamian amphibians and reptiles as carriers of *Salmonella*. The American journal of tropical medicine and hygiene.19(2): 632- 638
- Lenette. E.H.,1993.Manual de microbiología clínica. Cuarta edición. Editorial Panamericana. Buenos Aires, 751- 760 pp
- Marcus, L. 1988. Manual Práctico de Biología y Medicina Veterinaria Sobre Anfibios y reptiles. Ed. Narval. 60-70 pp
- MacFaddin, J. F. 1993. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica .Ed. Panamericana. México, 301 pp
- Pasquale, V., S. B. Baloda., S. Dumontet y K. Krovacek. 1994. An outbreak of *Aeromonas hydrophila* Infection in Turtles (*Pseudemis scripta*). 60. (5): 1678-1680.
- Paul-Murphy, J. y K. AMoriello. 1995. Skin Disease of Amphibians, In Moriello, K. A. & Mason, I. S. Small Animal Dermatology, Pergamon, U. K.
- Raphael, B. L. 1993. Amphibians. In Exotic Pet Medicine 1 Quesenberry K. E. and Hillier, E. V. (Eds.) Vet. Clin. North. Am. Small Animal. Prac. 23 (6): 1271-1286.
- Román, L.H. 1986. Enfermedad de la Pata Roja hallazgos microbiológicos. Veterinaria Argentina. 3 (28): 776-781.
- Sharma, V. K., Y. K. Kaura y I. P. Singh. 1974. Frogs as carriers of *Salmonella* and *Edwarsiella* . Antoine Van Leeuwenhoek. 40.171-175.
- Singh, V. D., V. D. Sharma y M. S. Sethi. 1979. Toads as reservoirs of Salmonellae: prevalence and antibiogram. Int. J. Zoon. 6: 82-84.
- Schlotter, Rebecca, A. 1981. Bacterial Study of Axolotls. Axolotls News Letter. Department of Microbiology, Indiana University, Bloomington Indiana. (20): 36-38.
- Shotts, E. B., J. L. Gaines., L. Martin y A. K. Prestwood. 1972. *Aeromonas*-Induced deaths Among Fish and Reptiles in an Eutrophic Inland Lake. J. A. V. M. A., 161 (6): 603-607.
- Shotts, E. B., Jr. 1984. *Aeromonas*. In Diseases of Amphibians and Reptiles. G. L. Hoff, F. L. Frye and E. R. Jacobson. Eds. Plenum Press. 49-57.
- Sugita H. y Y.Deguchi. 1983. Microflora in the Gastrointestinal Tract of Soft-Shell Turtle *Trionix sinencis*. 49 (2): 197-201.
- Trust, J. T. y K. H. Bartlett. 1981. Importation of salmonellae with aquarium species . Canadian Journal of Microbiology. 27: 500- 504.
- Van Der Waiij, D., B. J.Cohen. y G. W. Nace. 1974. , et. al..onization Patterns of Aerobic Gram-Negative Bacteria in the Cloaca of *Rana pipiens*. Lab. Anim. Sci. 24 (2): 307-31.
- Wriqht, K. M y B. R. Whitaker. 2001. Amphibian Medicine and Captive Husbandry. 159-179 pp.

APÉNDICE 1

REFERENCIA TAXONÓMICA DE LOS EJEMPLARES MUESTREADOS

Clase Amphibia

Subclase Lissamphibia

Orden Anura

Familia Bufonidae

Bufo compactilis
Bufo marinus
Bufo sp
Bufo valliceps

Familia Hylidae

Hyla eximia
Hyla plicata
Hyla sp
Pachymedusa dacnicolor
Phrynohyas venulosa
Smilisca baudini
Tripion petasatus

Familia Leptodactylidae

Ceratophrys sp

Familia Pelobatidae

Spea hammondi multiplicata

Familia Pipidae

Xenopus laevis

Familia Ranidae

Rana berlandieri
Rana montezumae

Rana sp

APÉNDICE 2

Resultados del Muestreo Realizado a Cada Ejemplar, Indicándose el % de Cobertura

Código del Individuo	BC 3593					BM 1831					BM 1836					BM 1837					BM 1838					BM 1924					BM 2560					BM 2651				
Género Bacteriano	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS
<i>Salmonella</i>				50					70					30					40					30					20					30					30	
<i>Citrobacter</i>	30								20		30	70				70	10				40	30												15						
<i>Shigella</i>									10																				10											
<i>Arizona</i>			35											10						10											60									
<i>E. Coli</i>						40	10							10					30					40					15											
<i>Alcaligenes</i>																													40											
<i>Tatumella</i>									70																															
<i>Providencia</i>																																				35	30			
<i>Klebsiella</i>																													40		25									
<i>Serratia</i>														50												10	20													
<i>Aeromonas</i>																													10											
<i>Morganella</i>																																								30
<i>Enterobacter</i>																										5														
<i>Proteus</i>											25				30	25				20	20					30														
<i>Hafnia</i>																													15											
<i>Pseudomonas</i>																																								
<i>Ewingella</i>																																								

Código del Individuo	BM 2672					BM 2702					BM 2703					BM 3128					BM 3307					BSP 3040					BV 2906					HE 3220				
Género Bacteriano	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS
<i>Salmonella</i>				40					50					25					60					20					20					20						
<i>Citrobacter</i>						75					30	25								70																				
<i>Shigella</i>				15										70	40																			20						10
<i>Arizona</i>									30					10					70																30					
<i>E. Coli</i>			20																		40			30					30		20	40				80				
<i>Alcaligenes</i>														20	30														20											20
<i>Tatumella</i>			30																					35							15					70				
<i>Providencia</i>																								10							20	30								
<i>Klebsiella</i>																			10																					
<i>Serratia</i>	30															40																			10					
<i>Aeromonas</i>																										10														
<i>Morganella</i>																																								10
<i>Enterobacter</i>																													30											
<i>Proteus</i>										20																														
<i>Hafnia</i>																																								
<i>Pseudomonas</i>																																								
<i>Ewingella</i>																45																								

Código del Individuo	HP 1					HP 2					HP 2798					HSP 2656					PD 3643					PD 3035					PD 3036					PD 3348				
	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS
<i>Salmonella</i>			40																				30					60					30							40
<i>Citrobacter</i>											20										10	10				25	30	15			20					10	10			
<i>Shigella</i>									30				30										30					30												
<i>Arizona</i>			30					20																									20							
<i>E. Coli</i>	50	50				50	40																								15									
<i>Alcaligenes</i>										40							20																		10					
<i>Tatumella</i>												20					10																							
<i>Providencia</i>	15	10					10									10		30													40									
<i>Klebsiella</i>																		30					30	20	20											10	10		60	
<i>Serratia</i>					15																																			
<i>Aeromonas</i>																																								
<i>Morganella</i>											10																	70												
<i>Enterobacter</i>																																			30					
<i>Proteus</i>																	30																							
<i>Hafnia</i>																		30																	30					
<i>Pseudomonas</i>													10																											
<i>Ewingella</i>																																								

Código del Individuo	PD 3061					PD 3397					PV 1664					PV 1665					SB 2250					TP 1465					CSP 3048					SHM 3					
	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	
<i>Salmonella</i>			60						40				40					50					10					40			20	40									
<i>Citrobacter</i>	20	10				20	5	30				15				30											10				10		40		30						
<i>Shigella</i>			10									10				30						10				10		20			20	10								20	
<i>Arizona</i>												15	30			20	25																							20	
<i>E. Coli</i>																50						20					30									30	10				
<i>Alcaligenes</i>												10	30	40			40	20	20	10	20																				20
<i>Tatumella</i>																																			30						
<i>Providencia</i>																					10			30											30						
<i>Klebsiella</i>			15	30	40				20	10																															
<i>Serratia</i>																							30																		
<i>Aeromonas</i>																																								20	
<i>Morganella</i>																							5				20	20													
<i>Enterobacter</i>																																			10						
<i>Proteus</i>																																									
<i>Hafnia</i>																																									
<i>Pseudomonas</i>																																									
<i>Ewingella</i>																														20											

Código del Individuo	SHM 2006					SHM 3280					SHM 3281					XL 2715					RB 2973					RB 2974					RB 3308					RM 2679									
	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS					
<i>Salmonella</i>									50										60																				40						35
<i>Citrobacter</i>							30								40										40					20					25										
<i>Shigella</i>				5					30					30	30					30					50					30															
<i>Arizona</i>												30							20						30					20		20		10			10		10						
<i>E. Coli</i>	40			40			60	30				30							15						30																				
<i>Alkaligenes</i>					30					50																				40					40					10					
<i>Tatumella</i>									40				10	15						25																									
<i>Providencia</i>																																													
<i>Klebsiella</i>																																													
<i>Serratia</i>																																													
<i>Aeromonas</i>	20				20																																								
<i>Morganella</i>																			10																										
<i>Enterobacter</i>		70																																											
<i>Proteus</i>																																													
<i>Hafnia</i>																																													
<i>Pseudomonas</i>																																													
<i>Ewingella</i>																																													

Código del Individuo	RM 3445					RM 3645					RSP 2079					RSP 2677					RSP 3644									
	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS					
<i>Salmonella</i>				15						10					40					35										
<i>Citrobacter</i>							20	30							10					10					5					
<i>Shigella</i>										30															20					
<i>Arizona</i>								25				10	30							25					10		30			
<i>E. Coli</i>		30																		30		90								
<i>Alkaligenes</i>					15					20					30										30					30
<i>Tatumella</i>		40								10															15					
<i>Providencia</i>				15																										
<i>Klebsiella</i>		70																		20										
<i>Serratia</i>																														
<i>Aeromonas</i>										20					20															
<i>Morganella</i>																														
<i>Enterobacter</i>																														
<i>Proteus</i>																														
<i>Hafnia</i>																														
<i>Pseudomonas</i>																														
<i>Ewingella</i>																														

APÉNDICE 3

Promedio de Cobertura en Cajas Petri, de Cada Género Bacteriano.

Código Individuo	BC 3593	BM 1831	BM 1836	BM 1837	BM 1838	BM 1924	BM 2560	BM 2651	BM 2672
Género Bacteriano									
<i>Salmonella</i>	50	70	30	40	30	20	30	30	40
<i>Citrobacter</i>	30	20	70	70	40				
<i>Shigella</i>		10				10	15		15
<i>Arizona</i>	35		10	10	10				
<i>E. Coli</i>		40	10	30	40	15	60		20
<i>Alkaligenes</i>						40			
<i>Tatumella</i>		70							30
<i>Providencia</i>								35	
<i>Klebsiella</i>									
<i>Serratia</i>		50				20	40		30
<i>Aeromonas</i>							10	30	
<i>Morganella</i>									
<i>Enterobacter</i>						5			
<i>Proteus</i>			30	25	30				
<i>Hafnia</i>						15			
<i>Pseudomonas</i>									
<i>Ewingella</i>									

Código Individuo	BM 2702	BM 2703	BM 3128	BM 3307	BSP 3040	BV 2906	HE 3220	HP 1	HP 2
Género Bacteriano									
<i>Salmonella</i>	50	25	60	20	20	20		40	
<i>Citrobacter</i>	75	30	70						
<i>Shigella</i>		70		70		20	10		30
<i>Arizona</i>	30	10	70			30		30	20
<i>E. Coli</i>				40	30	40	80	50	50
<i>Alkaligenes</i>		30			20		20		40
<i>Tatumella</i>				35		15	70		
<i>Providencia</i>				10		30		15	10
<i>Klebsiella</i>			10						
<i>Serratia</i>			40			10		15	
<i>Aeromonas</i>					10				
<i>Morganella</i>							10		
<i>Enterobacter</i>					30				
<i>Proteus</i>	20								
<i>Hafnia</i>									
<i>Pseudomonas</i>									
<i>Ewingella</i>									

Código Individuo	HP 2798	HSP 2656	PD 2643	PD 3035	PD 3036	PD 3061	PD 3397	PV 1664	PV 1665
Género Bacteriano									
<i>Salmonella</i>			30	60		60	40	40	50
<i>Citrobacter</i>	20		10	30	20	20	30	15	30
<i>Shigella</i>	30		30	30				10	30
<i>Arizona</i>					20	10		30	25
<i>E. Coli</i>					15				50
<i>Alkaligenes</i>		20			10			40	40
<i>Tatumella</i>	10	10			40				
<i>Providencia</i>		30							10
<i>Klebsiella</i>				30		30	40	10	
<i>Serratia</i>									
<i>Aeromonas</i>									
<i>Morganella</i>	10			70					
<i>Enterobacter</i>									
<i>Proteus</i>		30							
<i>Hafnia</i>			30						
<i>Pseudomonas</i>		10							
<i>Ewingella</i>									

Código Individuo	SB 2250	TP 1465	CSP 3048	SHM 3	SHM 2006	SHM 3280	SHM 3281	XL 2715	RB 2973
Género Bacteriano									
<i>Salmonella</i>	10		40	20		50		60	
<i>Citrobacter</i>		10	40	30		30	40		
<i>Shigella</i>	10	40	20		5	30	30	30	50
<i>Arizona</i>		20		20			30	20	30
<i>E. Coli</i>	20	30		30	40	60	30	15	30
<i>Alkaligenes</i>	20			20	30	50			40
<i>Tatumella</i>			30			40	15		
<i>Providencia</i>	30		30					25	30
<i>Klebsiella</i>	Apéndice III . Promedio de Cobertura en Cajas Petri de Cada Género Bacteriano								10
<i>Serratia</i>	30							20	
<i>Aeromonas</i>				20	20				
<i>Morganella</i>		20	20					10	10
<i>Enterobacter</i>				10	70				30
<i>Proteus</i>									
<i>Hafnia</i>				40					
<i>Pseudomonas</i>									
<i>Ewingella</i>		20							

Código Individuo	RB 2974	RB 3308	RM 2679	RM 3445	RM 3645	RSP 2079	RSP 2677	RSP 3644
Género Bacteriano								
<i>Salmonella</i>		40	35	15	10	35	35	
<i>Citrobacter</i>	40	20	25		30	25	20	5
<i>Shigella</i>	30	30			30			20
<i>Arizona</i>	20	20	10		25	10	25	10
<i>E. Coli</i>				30			90	
<i>Alkaligenes</i>	40	40	10	15	20	10	30	10
<i>Tatumella</i>				40	10		15	
<i>Providencia</i>				15				
<i>Klebsiella</i>				70			20	
<i>Serratia</i>								
<i>Aeromonas</i>	20	10	40		20	40		10
<i>Morganella</i>								
<i>Enterobacter</i>								
<i>Proteus</i>								
<i>Hafnia</i>								
<i>Pseudomonas</i>								
<i>Ewingella</i>								

APÉNDICE 4

Bacterias Aisladas de Animales clínicamente sanos y su porcentaje de cobertura.

BC 3596 %	BM 1831 %	BM 1837 %	BM 1924 %	BM 2560 %	BM 2651 %	BM 2672 %	BM 2702 %	BM 2703 %
Salmonella 50	Salmonella 70	Salmonella 40	Salmonella 20	Salmonella 30	Salmonella 30	Salmonella 40	Salmonella 50	Salmonella 25
Citrobacter 30	Citrobacter 20	Citrobacter 70	Shigella 10	Citrobacter 15	Providencia 35	Shigella 15	Citrobacter 75	Citrobacter 30
Arizona 35	Shigella 10	Arizona 10	E. coli 15	Arizona 60	Morganella 30	E. coli 20	Arizona 30	Shigella 70
	E. coli 40	E. coli 30	Alcaligenes 40	Klebsiella 40		Tatumella 30	Proteus 20	Arizona 10
	Tatumella 70	Proteus 25	Serratia 20	Serratia 10		Serratia 30		Alcaligenes 30
	Serratia 50		Enterobacter 5					
			Hafnia15					

BM 3128 %	BM 3307 %	BV 2906 %	HP 1 %	HP 2 %	HP 2798 %	PD 2643 %	PD 3035 %	PD3036 %
Salmonella 30	Salmonella 20	Salmonella 20	Salmonella 40	Shigella 30	Citrobacter 20	Salmonella 30	Salmonella 60	Citrobacter 20
Citrobacter 70	E. coli 30	Shigella 20	Arizona 30	Arizona 20	Tatumella 10	Citrobacter 10	Citrobacter 30	Arizona 20
Arizona 70	Tatumella 35	Arizona 30	E. coli 50	E. coli 50	Morganella 10	Shigella 30	Shigella 30	E. coli 15
Klebsiella 10	Providencia 10	E. coli 40	Providencia 15	Tatumella 40	Shigella 30	Hafnia30	Klebsiella 30	Alcaligenes 10
Serratia 40		Tatumella 15	Serratia 15	Peovidencia 10			Morganella 70	Tatumella 40
		Providencia 30						
		Aeromonas 10						

PD 3061 %	PD 3397 %	PV 1665 %	SB 2250 %	TP 146 5 %	SHM 3281 %	XL 2715 %	RB 2973 %	RB 3308 %
Salmonella 60	Salmonella 40	Salmonella 40	Salmonella 10	Citrobacter 10	Citrobacter 40	Salmonella 60	Shigella 50	Salmonella 40
Citrobacter 20	Citrobacter 30	Citrobacter 15	Shigella 10	Shigella 40	Shigella 30	Shigella 30	Arizona 30	Citrobacter 25
Arizona 10	Klebsiella 40	Shigella 10	E. coli 20	Arizona 20	Arizona 30	Arizona 20	E. coli 30	Arizona 10
Klebsiella 30		Arizona 30	Alcaligenes 20	E. coli 30	E. coli 30	E. coli 15	Alcaligenes 40	Alcaligenes 40
		Alcaligenes 40	Serratia 30	Morganella 20	Tatumella 15	Providencia 25	Providencia 30	Aeromonas 10
			Providencia 30	Erwingella 20		Serratia 20	Klebsiella 10	
						Morganella 10	Morganella 10	
							Enterobacter 30	

RM 3445 %	RM 3645 %	RSP 2677 %	RSP 3644 %
Salmonella 15	Salmonella 10	Salmonella 35	Citrobacter 5
E. coli 30	Citrobacter 30	Citrobacter 20	Shigella 20
Alcaligenes 15	Shigella 30	E. coli 90	Arizona 30
Tatumella 40	Arizona 25	Alcaligenes 30	Alcaligenes 30
Providencia 15	Alcaligenes 20	Tatumella 15	

8.- LITERATURA CITADA

- Bartlett, H., T. Trust. Y H. Lior. 1977. Small pet aquarium frogs as a source of *Samonella* . Applied. Environmental. Microbiology.33(5): 1026-1029.
- Bioxon , Manual de Bacteriologia .66-67 pp
- Boyer, C. I., K. Blackler y L. E. Delanney. 1971. *Aeromonas hydrophila* Infection in The Mexican Axolotl, *Siredon mexicanus*. Lab. Anim. Sci., 21 (3): 372-375.
- Bradford, D. F. 1991. Mass Mortality and Extinction in a High-Elevation Population of *Rana mucosa*. Journal of Herpetology, 25 (2): 174-177
- Campbell, T. 1995. Amphibian Husbandry and Medical Care Exotic Animal. A Veterinary Handbook, collection of Articles from Veterinary Technician. Veterinary Learning System, New Jersey 14 (10): 156-160.
- Carr, H. A., R. L. Amborski., D. D. Culley y G. F. Amborski., 1976. Aerobic Bacteria in the Intestinal Tracts of Bullfrogs (*Rana catesbeiana*) maintained at Low Temperatures. Herpetológica, 32 (3): 239-244.
- Colt, J., K. Orwicz y D. Brooks. 1984. Gas Bubble Disease in the African Clawed Frog, *Xenopus laevis*. Journal of Herpetology 18 (2): 131-137.
- Constantino Casas, F., A. Armijo Ortiz., D. Osorio Sarabia y L. Chávez Soriano. 1997. Infección por *Aeromonas Hydrophila* e *Ichthyophthirius multifiliis* en trucha (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) y tilapia (*Oreochromis aureus*, L) de un centro de acopio de Morelos, México. Estudio Patológico. Vet. Mex. 28(1): 59-61 pp
- Cooper, J. E., J. R. Needham y J. Griffin. 1978. A Bacterial Disease of the Darwin's Frogs (*Rhinoderma darwini*). Lab. Anim. 12: 91-93.
- Crashaw, G. J.1993. Amphibian Medicine. En Fowler, M: E. Zoo and Wild Animal Medicine, current therapy 3 . 131-139
- Cunningham, A. A., T. E. S. Langton., P. M. Bennet., J. F. Lewin., S. E. N. Drury., R. E. Gough y S. K. McGregor. 1996. Pathological and Microbiological Findings from Incidents of Unusual Mortality of the Common Frog (*Rana temporaria*). Vet. Rec. 133: 1539-1551 .
- Duhon, S. 1989. Diseases of Axolotls. In Developmental Biology of the Axolotl. John, B. Armstrong, Oxford University Press, New York. 265-269.
- Dusi, J. L. 1949. The Natural Occurrence of "Red Leg", *Pseudomonas hydrophila*, in *Pseudomonas hydrophila*, In a Population, of American Toads, *Bufo americanus*. Ohio Natural Science. 49(2): 70 - 71.
- Elkan, E. 1974. Physiology of Amphibian . Academic Press New York. Vol . III. 273- 281.
- Esterabadi, A. H., F Entessar y M. A. Khan. 1972. Isolation and Identification of *Aeromonas hydrophila* from an Outbreak of a Haemorrhagic Septicemia in Snakes. Can. J. comp. Med. (37): 418-41.

- Fliermans, C. B., R. W. Gorden., T. C. Hazen., y G. W. Esch, G. W. 1977. *Aeromonas* Distribution and Survival in a Thermally Altered Lake. 33 (1): 114-122.
- Fowler, M. E. 1986. Amphibian Medicine, in Fowler, M. E. (Ed.): Zoo and Wild Animal Medicine. 100-105.
- García, R. 1999. Características de la flora bacteriana del tracto digestivo bajo la presencia de *Entamoeba invadens* en una colonia de *Pituophis deppei deppei* (Reptilia; Squamata; Serpientes; Colubridae) en cautiverio. Tesis para obtener el título de biólogo. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Edo. de México. 1999.
- Gibbs, E. L., G. W. Nace y M. B. Emmons. 1971. The Live Frog Is Almost Dead. *Bioscience* 21 (20): 1027-1034 pp
- Gibbs, E. L. 1963. An Effective Treatment for Red Leg_ Disease in *Rana pipiens*. *Lab. Anim. C.* 13 (6): 781-783.
- Gibbs, E. L., 1973. *Rana pipiens*: Health and Disease- How Little We Know. *Amer. Zool.* (13): 93-96.
- Glorioso, J.C., R. L. Amborski., G. F. Amborski y D. D. Culley. 1974. Microbiological Studies on Septicemic Bullfrogs (*Rana catesbeiana*.) *J. Vet. Res.* 35 (9): 1241-1245.
- Green, S. L., D. M. Bouley., R. J. Tolwni., K. S. Waggie., B. D. Lifland., G. M. Otto., Jr. Ferrel y E. James. 1999. Identification and management of an outbreak of *Flavobacterium meningosepticum* infection in a colony of South Africa clawed frogs (*Xenopus laevis*). *JAVMA*, 214 (12): 1833-1838.
- Herrlein, H. G. 1954. Amphibians diseases. In guidelines of the breeding, care and management of laboratory animals. A Report of the subcommittee on amphibian, on standards, Institute of Laboratory Animal Resources. National Academy of Sciences Washington Dc.116-128.
- Hird, D. W., S. L. Diesh., R. G. McKinell., E. Gorham., F. B. Martín ., S. W. Kurtz., y C. Dubrovlny. 1981. *Aeromonas hydrophila* in Wild Caught Frogs and Tadpoles (*Rana pipiens*) In Minnesota, *Lab. Anim. Sci.* 31 (2): 166-169.
- Hoff, G. L. 1984. *Serratia* in. G. L. Hoff, F. L. Frye, and E. R. Jacobson (Eds.) *Diseases of Amphibians and Reptiles*. Plenum Press. N. Y., 59-67.
- Hoff, Gerald I y D. M. Hoff. 1984. *Salmonella y Arizona*. in G. L. Hoff, F. L. Frye, and E. R. Jacobson (Eds.) *Diseases of Amphibians and Reptiles*. Plenum Press. N. Y., 69-77.
- Hubbard, G. 1981. *Aeromonas hydrophila* infection in *Xenopus laevis* *Laboratory Animal Science.* 31(3): 297- 300.
- Jacobson, E. 1994. Veterinary Procedures of Captive -Bred Herpetofauna on J. B. Murphy and J. T. , et. al. (Eds.) *Captive*

Management and Conservation of Amphibians and Reptiles. Society for Study of Amphibians and Reptiles, New York, 109-118.

- Jacobson, E. R. (1984). *Pseudomonas* in. G. L. Hoff; F. L. Frye and E. R. Jacobson, (Eds.) Diseases of Amphibians and reptiles. Plenum Press. New York, U. S. A., 37-45.
- Kulp, W.R. y D. G. Borden. 1942. Further Studies on *Proteus hydrophilus*, The Etiological Agent in Red Leg, disease of Frogs. J. Bacteriol. (44): 673-685.
- Kourany, M., C. Myers y C. Schneider. 1970. Oanamian amphibians and reptiles as carriers of *Salmonella*. The American journal of tropical medicine and hygiene.19(2): 632- 638
- Lenette. E.H.,1993.Manual de microbiología clínica. Cuarta edición. Editorial Panamericana. Buenos Aires, 751- 760 pp
- Marcus, L. 1988. Manual Práctico de Biología y Medicina Veterinaria Sobre Anfibios y reptiles. Ed. Narval. 60-70 pp
- MacFaddin, J. F. 1993. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica .Ed. Panamericana. México, 301 pp
- Pasquale, V., S. B. Baloda., S. Dumontet y K. Krovacek. 1994. An outbreak of *Aeromonas hydrophila* Infection in Turtles (*Pseudemis scripta*). 60. (5): 1678-1680.
- Paul-Murphy, J. y K. AMoriello. 1995. Skin Disease of Amphibians, In Moriello, K. A. & Mason, I. S. Small Animal Dermatology, Pergamon, U. K.
- Raphael, B. L. 1993. Amphibians. In Exotic Pet Medicine 1 Quesenberry K. E. and Hillier, E. V. (Eds.) Vet. Clin. North. Am. Small Animal. Prac. 23 (6): 1271-1286.
- Román, L.H. 1986. Enfermedad de la Pata Roja hallazgos microbiológicos. Veterinaria Argentina. 3 (28): 776-781.
- Sharma, V. K., Y. K. Kaura y I. P. Singh. 1974. Frogs as carriers of *Salmonella* and *Edwarsiella* . Antoine Van Leeuwenhoek. 40.171-175.
- Singh, V. D., V. D. Sharma y M. S. Sethi. 1979. Toads as reservoirs of Salmonellae: prevalence and antibiogram. Int. J. Zoon. 6: 82-84.
- Schlotter, Rebecca, A. 1981. Bacterial Study of Axolotls. Axolotls News Letter. Department of Microbiology, Indiana University, Bloomington Indiana. (20): 36-38.
- Shotts, E. B., J. L. Gaines., L. Martin y A. K. Prestwood. 1972. *Aeromonas*-Induced deaths Among Fish and Reptiles in an Eutrophic Inland Lake. J. A. V. M. A., 161 (6): 603-607.
- Shotts, E. B., Jr. 1984. *Aeromonas*. In Diseases of Amphibians and Reptiles. G. L. Hoff, F. L. Frye and E. R. Jacobson. Eds. Plenum Press. 49-57.
- Sugita H. y Y.Deguchi. 1983. Microflora in the Gastrointestinal Tract of Soft-Shell Turtle *Trionix sinencis*. 49 (2): 197-201.
- Trust, J. T. y K. H. Bartlett. 1981. Importation of salmonellae with aquarium species . Canadian Journal of Microbiology. 27: 500- 504.

- Van Der Waiij, D., B. J.Cohen. y G. W. Nace. 1974. , et. al..onization Patterns of Aerobic Gram-Negative Bacteria in the Cloaca of *Rana pipiens*. Lab. Anim. Sci. 24 (2): 307-31.
- Wrigth, K. M y B. R. Whitaker. 2001. Amphibian Medicine and Captive Husbandry. 159-179 pp.

APÉNDICE 1

REFERENCIA TAXONÓMICA DE LOS EJEMPLARES MUESTREADOS

Clase Amphibia

Subclase Lissamphibia

Orden Anura

Familia Bufonidae

Bufo compactilis
Bufo marinus
Bufo sp
Bufo valliceps

Familia Hylidae

Hyla eximia
Hyla plicata
Hyla sp
Pachymedusa dacnicolor
Phrynohyas venulosa
Smilisca baudini
Tripion petasatus

Familia Leptodactylidae

Ceratophrys sp

Familia Pelobatidae

Spea hammondi multiplicata

Familia Pipidae

Xenopus laevis

Familia Ranidae

Rana berlandieri
Rana montezumae

Rana sp

APÉNDICE 2

Resultados del Muestreo Realizado a Cada Ejemplar, Indicándose el % de Cobertura

Código del Individuo	BC 3593					BM 1831					BM 1836					BM 1837					BM 1838					BM 1924					BM 2560					BM 2651				
Género Bacteriano	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS
<i>Salmonella</i>				50					70					30					40					30					20					30					30	
<i>Citrobacter</i>	30								20		30	70				70	10				40	30												15						
<i>Shigella</i>									10															10																
<i>Arizona</i>			35											10					10										60											
<i>E. Coli</i>						40	10							10					30					40					15											
<i>Alcaligenes</i>																													40											
<i>Tatumella</i>									70																															
<i>Providencia</i>																																		35	30					
<i>Klebsiella</i>																													40	25										
<i>Serratia</i>														50										10	20															
<i>Aeromonas</i>																													10											
<i>Morganella</i>																																			30					
<i>Enterobacter</i>																										5														
<i>Proteus</i>											25			30		25			20		20			30																
<i>Hafnia</i>																													15											
<i>Pseudomonas</i>																																								
<i>Ewingella</i>																																								

Código del Individuo	BM 2672					BM 2702					BM 2703					BM 3128					BM 3307					BSP 3040					BV 2906					HE 3220				
Género Bacteriano	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS
<i>Salmonella</i>				40					50					25					60					20					20					20						
<i>Citrobacter</i>						75					30	25							70																					
<i>Shigella</i>				15										70	40									20										20					10	
<i>Arizona</i>									30					10					70															30						
<i>E. Coli</i>			20																		40			30					30		20	40				80				
<i>Alcaligenes</i>														20	30														20											20
<i>Tatumella</i>			30																					35							15					70				
<i>Providencia</i>																								10							20	30								
<i>Klebsiella</i>																			10																					
<i>Serratia</i>	30															40																		10						
<i>Aeromonas</i>																										10														
<i>Morganella</i>																																							10	
<i>Enterobacter</i>																													30											
<i>Proteus</i>										20																														
<i>Hafnia</i>																																								
<i>Pseudomonas</i>																																								
<i>Ewingella</i>																45																								

Código del Individuo	HP 1					HP 2					HP 2798					HSP 2656					PD 3643					PD 3035					PD 3036					PD 3348									
	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS					
<i>Salmonella</i>			40																				30					60					30								40				
<i>Citrobacter</i>											20										10	10				25	30	15			20					10	10								
<i>Shigella</i>									30				30										30					30																	
<i>Arizona</i>			30					20																									20												
<i>E. Coli</i>	50	50				50	40																								15														
<i>Alcaligenes</i>										40							20																					10							
<i>Tatumella</i>												20					10																												
<i>Providencia</i>	15	10					10									10		30													40														
<i>Klebsiella</i>																					30					30	20	20								10	10			60					
<i>Serratia</i>					15																																								
<i>Aeromonas</i>																																													
<i>Morganella</i>											10																			70															
<i>Enterobacter</i>																																								30					
<i>Proteus</i>																		30																											
<i>Hafnia</i>																							30																	30					
<i>Pseudomonas</i>																	10																												
<i>Ewingella</i>																																													

Código del Individuo	PD 3061					PD 3397					PV 1664					PV 1665					SB 2250					TP 1465					CSP 3048					SHM 3					
	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	
<i>Salmonella</i>			60						40					40					50					10					40		20	40									
<i>Citrobacter</i>	20	10				20	5	30				15				30											10				10		40		30						
<i>Shigella</i>			10										10					30					10			10		20			20	10								20	
<i>Arizona</i>												15	30			20	25																							20	
<i>E. Coli</i>																50						20					30									30	10				
<i>Alcaligenes</i>												10	30	40			40	20	20	10	20																				20
<i>Tatumella</i>																																						30			
<i>Providencia</i>																					10			30														30			
<i>Klebsiella</i>			15	30	40				20	10																															
<i>Serratia</i>																								30																	
<i>Aeromonas</i>																																								20	
<i>Morganella</i>																										5		20	20												
<i>Enterobacter</i>																																									
<i>Proteus</i>																																									
<i>Hafnia</i>																																									
<i>Pseudomonas</i>																																									
<i>Ewingella</i>																																								20	

Código del Individuo	SHM 2006					SHM 3280					SHM 3281					XL 2715					RB 2973					RB 2974					RB 3308					RM 2679									
	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS					
<i>Salmonella</i>									50										60																				40						35
<i>Citrobacter</i>							30								40										40					20					25										
<i>Shigella</i>				5					30					30	30					30					50				30						30										
<i>Arizona</i>												30							20						30				20			20		10			10			10					
<i>E. Coli</i>	40			40			60	30				30							15						30																				
<i>Alkaligenes</i>					30					50												40								40					40										
<i>Tatumella</i>									40				10	15						25																									
<i>Providencia</i>																									30																				
<i>Klebsiella</i>																									10																				
<i>Serratia</i>																				20																									
<i>Aeromonas</i>	20				20																									20				10						40					
<i>Morganella</i>																	10								10																				
<i>Enterobacter</i>		70																				30								50															
<i>Proteus</i>																																													
<i>Hafnia</i>																																													
<i>Pseudomonas</i>																																													
<i>Ewingella</i>																																													

Código del Individuo	RM 3445					RM 3645					RSP 2079					RSP 2677					RSP 3644									
	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS	EMB	VB	MC	SS	AS					
<i>Salmonella</i>				15						10					40					35										
<i>Citrobacter</i>							20	30							10					10					5					
<i>Shigella</i>										30															20					
<i>Arizona</i>								25				10	30							25					10				30	
<i>E. Coli</i>		30																		30		90								
<i>Alkaligenes</i>					15					20					30										30					30
<i>Tatumella</i>		40								10															15					
<i>Providencia</i>				15																										
<i>Klebsiella</i>		70																		20										
<i>Serratia</i>																														
<i>Aeromonas</i>										20					20															
<i>Morganella</i>																														
<i>Enterobacter</i>																														
<i>Proteus</i>																														
<i>Hafnia</i>																														
<i>Pseudomonas</i>																														
<i>Ewingella</i>																														

APÉNDICE 3

Promedio de Cobertura en Cajas Petri, de Cada Género Bacteriano.

Código Individuo	BC 3593	BM 1831	BM 1836	BM 1837	BM 1838	BM 1924	BM 2560	BM 2651	BM 2672
Género Bacteriano									
<i>Salmonella</i>	50	70	30	40	30	20	30	30	40
<i>Citrobacter</i>	30	20	70	70	40				
<i>Shigella</i>		10				10	15		15
<i>Arizona</i>	35		10	10	10				
<i>E. Coli</i>		40	10	30	40	15	60		20
<i>Alkaligenes</i>						40			
<i>Tatumella</i>		70							30
<i>Providencia</i>								35	
<i>Klebsiella</i>									
<i>Serratia</i>		50				20	40		30
<i>Aeromonas</i>							10	30	
<i>Morganella</i>									
<i>Enterobacter</i>						5			
<i>Proteus</i>			30	25	30				
<i>Hafnia</i>						15			
<i>Pseudomonas</i>									
<i>Ewingella</i>									

Código Individuo	BM 2702	BM 2703	BM 3128	BM 3307	BSP 3040	BV 2906	HE 3220	HP 1	HP 2
Género Bacteriano									
<i>Salmonella</i>	50	25	60	20	20	20		40	
<i>Citrobacter</i>	75	30	70						
<i>Shigella</i>		70		70		20	10		30
<i>Arizona</i>	30	10	70			30		30	20
<i>E. Coli</i>				40	30	40	80	50	50
<i>Alkaligenes</i>		30			20		20		40
<i>Tatumella</i>				35		15	70		
<i>Providencia</i>				10		30		15	10
<i>Klebsiella</i>			10						
<i>Serratia</i>			40			10		15	
<i>Aeromonas</i>					10				
<i>Morganella</i>							10		
<i>Enterobacter</i>					30				
<i>Proteus</i>	20								
<i>Hafnia</i>									
<i>Pseudomonas</i>									
<i>Ewingella</i>									

Código Individuo	HP 2798	HSP 2656	PD 2643	PD 3035	PD 3036	PD 3061	PD 3397	PV 1664	PV 1665
Género Bacteriano									
<i>Salmonella</i>			30	60		60	40	40	50
<i>Citrobacter</i>	20		10	30	20	20	30	15	30
<i>Shigella</i>	30		30	30				10	30
<i>Arizona</i>					20	10		30	25
<i>E. Coli</i>					15				50
<i>Alkaligenes</i>		20			10			40	40
<i>Tatumella</i>	10	10			40				
<i>Providencia</i>		30							10
<i>Klebsiella</i>				30		30	40	10	
<i>Serratia</i>									
<i>Aeromonas</i>									
<i>Morganella</i>	10			70					
<i>Enterobacter</i>									
<i>Proteus</i>		30							
<i>Hafnia</i>			30						
<i>Pseudomonas</i>		10							
<i>Ewingella</i>									

Código Individuo	SB 2250	TP 1465	CSP 3048	SHM 3	SHM 2006	SHM 3280	SHM 3281	XL 2715	RB 2973
Género Bacteriano									
<i>Salmonella</i>	10		40	20		50		60	
<i>Citrobacter</i>		10	40	30		30	40		
<i>Shigella</i>	10	40	20		5	30	30	30	50
<i>Arizona</i>		20		20			30	20	30
<i>E. Coli</i>	20	30		30	40	60	30	15	30
<i>Alkaligenes</i>	20			20	30	50			40
<i>Tatumella</i>			30			40	15		
<i>Providencia</i>	30		30					25	30
<i>Klebsiella</i>	Apéndice III . Promedio de Cobertura en Cajas Petri de Cada Género Bacteriano								10
<i>Serratia</i>	30							20	
<i>Aeromonas</i>				20	20				
<i>Morganella</i>		20	20					10	10
<i>Enterobacter</i>				10	70				30
<i>Proteus</i>									
<i>Hafnia</i>				40					
<i>Pseudomonas</i>									
<i>Ewingella</i>		20							

Código Individuo	RB 2974	RB 3308	RM 2679	RM 3445	RM 3645	RSP 2079	RSP 2677	RSP 3644
Género Bacteriano								
<i>Salmonella</i>		40	35	15	10	35	35	
<i>Citrobacter</i>	40	20	25		30	25	20	5
<i>Shigella</i>	30	30			30			20
<i>Arizona</i>	20	20	10		25	10	25	10
<i>E. Coli</i>				30			90	
<i>Alkaligenes</i>	40	40	10	15	20	10	30	10
<i>Tatumella</i>				40	10		15	
<i>Providencia</i>				15				
<i>Klebsiella</i>				70			20	
<i>Serratia</i>								
<i>Aeromonas</i>	20	10	40		20	40		10
<i>Morganella</i>								
<i>Enterobacter</i>								
<i>Proteus</i>								
<i>Hafnia</i>								
<i>Pseudomonas</i>								
<i>Ewingella</i>								

APÉNDICE 4

Bacterias Aisladas de Animales clínicamente sanos y su porcentaje de cobertura.

BC 3596 %	BM 1831 %	BM 1837 %	BM 1924 %	BM 2560 %	BM 2651 %	BM 2672 %	BM 2702 %	BM 2703 %
Salmonella 50	Salmonella 70	Salmonella 40	Salmonella 20	Salmonella 30	Salmonella 30	Salmonella 40	Salmonella 50	Salmonella 25
Citrobacter 30	Citrobacter 20	Citrobacter 70	Shigella 10	Citrobacter 15	Providencia 35	Shigella 15	Citrobacter 75	Citrobacter 30
Arizona 35	Shigella 10	Arizona 10	E. coli 15	Arizona 60	Morganella 30	E. coli 20	Arizona 30	Shigella 70
	E. coli 40	E. coli 30	Alcaligenes 40	Klebsiella 40		Tatumella 30	Proteus 20	Arizona 10
	Tatumella 70	Proteus 25	Serratia 20	Serratia 10		Serratia 30		Alcaligenes 30
	Serratia 50		Enterobacter 5					
			Hafnia15					

BM 3128 %	BM 3307 %	BV 2906 %	HP 1 %	HP 2 %	HP 2798 %	PD 2643 %	PD 3035 %	PD3036 %
Salmonella 30	Salmonella 20	Salmonella 20	Salmonella 40	Shigella 30	Citrobacter 20	Salmonella 30	Salmonella 60	Citrobacter 20
Citrobacter 70	E. coli 30	Shigella 20	Arizona 30	Arizona 20	Tatumella 10	Citrobacter 10	Citrobacter 30	Arizona 20
Arizona 70	Tatumella 35	Arizona 30	E. coli 50	E. coli 50	Morganella 10	Shigella 30	Shigella 30	E. coli 15
Klebsiella 10	Providencia 10	E. coli 40	Providencia 15	Tatumella 40	Shigella 30	Hafnia30	Klebsiella 30	Alcaligenes 10
Serratia 40		Tatumella 15	Serratia 15	Peovidencia 10			Morganella 70	Tatumella 40
		Providencia 30						
		Aeromonas 10						

PD 3061 %	PD 3397 %	PV 1665 %	SB 2250 %	TP 146 5 %	SHM 3281 %	XL 2715 %	RB 2973 %	RB 3308 %
Salmonella 60	Salmonella 40	Salmonella 40	Salmonella 10	Citrobacter 10	Citrobacter 40	Salmonella 60	Shigella 50	Salmonella 40
Citrobacter 20	Citrobacter 30	Citrobacter 15	Shigella 10	Shigella 40	Shigella 30	Shigella 30	Arizona 30	Citrobacter 25
Arizona 10	Klebsiella 40	Shigella 10	E. coli 20	Arizona 20	Arizona 30	Arizona 20	E. coli 30	Arizona 10
Klebsiella 30		Arizona 30	Alcaligenes 20	E. coli 30	E. coli 30	E. coli 15	Alcaligenes 40	Alcaligenes 40
		Alcaligenes 40	Serratia 30	Morganella 20	Tatumella 15	Providencia 25	Providencia 30	Aeromonas 10
			Providencia 30	Erwingella 20		Serratia 20	Klebsiella 10	
						Morganella 10	Morganella 10	
							Enterobacter 30	

RM 3445 %	RM 3645 %	RSP 2677 %	RSP 3644 %
Salmonella 15	Salmonella 10	Salmonella 35	Citrobacter 5
E. coli 30	Citrobacter 30	Citrobacter 20	Shigella 20
Alcaligenes 15	Shigella 30	E. coli 90	Arizona 30
Tatumella 40	Arizona 25	Alcaligenes 30	Alcaligenes 30
Providencia 15	Alcaligenes 20	Tatumella 15	