

# Caracterización epidemiológica de galápagos. *Emys* y *Trachemys*



CEU

Universidad  
Cardenal Herrera

# **MEMORIA TÉCNICA DEL PROYECTO LIFE09-TRACHEMYS**

***“Caracterización epidemiológica de galápagos,  
estrategia y técnicas demostrativas para la  
erradicación de galápagos invasores”***

**Facultad de Veterinaria  
Universidad CEU-Cardenal Herrera**

**Dr. Santiago Vega García  
Dra. Clara Marín Orenga  
Dña. Sara González Bodí  
Dña. Sofía Ingesa Capaccioni**

**Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública  
Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos.**

**Moncada, 22 de noviembre 2011**

## Indice

|   |    |
|---|----|
| 1.Introducción                          | 2  |
| 2. Material y métodos                   | 6  |
| 2.1.Población de estudio                | 6  |
| 2.2.Muestreo del lote                   | 7  |
| 2.3.Análisis microbiológico             | 11 |
| 3. Resultados                           | 13 |
| 3.1.Muestras analizadas                 | 13 |
| 3.2.Microorganismos analizados          | 14 |
| 3.2.1. <i>Salmonella</i>                | 14 |
| 3.2.2. <i>E. coli</i>                   | 15 |
| 3.2.3. <i>Proteus</i> spp.              | 16 |
| 3.2.4. <i>Vibrio</i> spp.               | 17 |
| 3.2.5. <i>Campylobacter</i> spp.        | 17 |
| 3.2.6. <i>Aeromonas hydrophila</i>      | 18 |
| 3.2.7. <i>Edwardsiella tarda</i>        | 19 |
| 3.2.8. <i>Streptococcus</i> spp.        | 20 |
| 3.2.9. <i>Acinetobacter</i> spp.        | 21 |
| 3.2.10. <i>Staphylococcus</i>           | 22 |
| 3.2.11. <i>Citrobacter freundii</i>     | 23 |
| 3.2.12. <i>Klebsiella</i> spp.          | 24 |
| 3.2.13. <i>Alcaligenes</i> spp.         | 25 |
| 3.2.14. <i>Bacillus</i> spp             | 26 |
| 3.2.15. <i>Plesiomonas shigelloides</i> | 27 |
| 3.2.16. <i>Enterobacter</i>             | 28 |
| 4.Conclusiones                          | 29 |

## 1. Introducción

*Trachemys scripta elegans* (**Figura 1**) es conocida vulgarmente como “Galápago de Florida” aunque esta especie de tortuga es originaria del área que comprende el sureste de los Estados Unidos y el noreste de Méjico. Fue introducida en Europa gracias a su comercio como mascota, y su popularidad se ha ido incrementando con los años sobre todo entre el sector infantil, hasta convertirse en la tortuga más comercializada del mercado. La venta de galápagos exóticos como animales de compañía y su posterior liberación incontrolada son las causas de la presencia cada vez más frecuente de estas especies en el medio natural ([Martínez Silvestre y Cerradelo, 2000](#)).



**Figura 1.** *Trachemys scripta elegans*.

Estos reptiles son importantes reservorios de agentes zoonóticos, entre los que cabe destacar *Salmonella spp* ([Vincent \*et al.\*, 1960](#); [Chiodini and Sundberg, 1981](#); [Pasmans \*et al.\*, 2000](#); [Briones \*et al.\*, 2004](#); [Hidalgo-Vila \*et al.\*, 2007:2008](#)). Este agente patógeno forma parte de la flora gastrointestinal habitual de esta especie ([CDC, 2008](#)). La excreción fecal es la fuente más importante de contaminación medioambiental y, por lo tanto, con gran repercusión epidemiológica ([Morse y Duncan, 1974](#); [Harwood \*et al.\*, 1999](#); [Baudart \*et al.\*, 2000](#)). Los galápagos eliminan esta bacteria, de manera constante o intermitente, junto con las heces. La eliminación puede aumentar debido a situaciones

que puedan suponer un estrés para los animales, tales como el traslado (Le Minor, 1992; Rodríguez et al., 1999).

La salmonelosis es un problema con un gran impacto en Salud Pública y constituye la segunda causa, después de *Campylobacter*, más importante de gastroenteritis en la Unión europea (EFSA, 2012). El papel de las tortugas acuáticas como transmisoras de esta zoonosis es cada vez más relevante debido entre otros motivos a que la infección afecta con mayor intensidad a un grupo de la población muy vulnerable como son los bebés y los niños (Nagano et al., 2006). Los primeros casos de salmonelosis en humanos asociados al contagio a través de galápagos de la especie *Trachemys* fueron descritos en los Estados Unidos en 1963 (Hersey, 1963). Varios estudios pusieron en evidencia casos de transmisión de salmonelosis a humanos procedentes de ejemplares de *Trachemys scripta elegans* como mascotas, lo que llevo a prohibir su venta en todo el territorio americano (Bringsøe, 2002). Los últimos estudios sitúan la prevalencia de *Salmonella* en galápagos de vida libre de Illinois (Estados Unidos) en torno al 11% (Readel et al., 2010), mientras que los datos obtenidos en España la sitúan en un 6,61%, para las tortugas de la especie *Emys*, y en torno al 6,38% en el caso de las *Trachemys* (Hidalgo-Vila et al., 2008) en el sudeste peninsular. En la Unión Europea, así como en España, también se han documentado casos de salmonelosis asociados a la exposición a tortugas (Hernández et al., 2012; Lafuente et al., 2012). No obstante, hasta dónde hemos sido capaces de conocer, la tortuga como portadora de *Salmonella* está muy poco descrita en Europa.

Entre los agentes patógenos y con carácter zoonótico más frecuentemente aislados en *Trachemys scripta scripta* y *Emys orbicularis* se encuentran también las bacterias del género *Alcaligenes* (Castellani y Chalmers, 1919), *Aeromonas* (Stanier, 1943), *Escherichia* (Castellani y Chalmers, 1919), *Proteus* (Hauser, 1885), *Enterobacter* (Hormaeche y Edwards, 1960), *Klebsiella* (Trevisan, 1885), *Edwardsiella tarda* (Ewing y McWhorter, 1965), *Streptococcus* (Rosenbach, 1884) y *Staphylococcus aureus* (Rosenbach, 1884). Estos microorganismos suelen estar presentes en medios acuáticos (Manage et al., 2000; Kersters et al., 1996; Miranda y Castillo, 1996; Borell et al., 1998; Goñi-Urriza et al., 1999; Montes et al., 1999; Obi et al., 2003; Ishii et al., 2006, 2007; Stamm, 1999; Sramová et al., 1992; Sechter et al., 1983) y forman también parte de la flora habitual de estas especies de galápagos, por lo que estos animales actúan también como reservorio de estos microorganismos implicados en patologías humanas.

*Campylobacter*, otro agente zoonótico causante de enteritis, abortos, bacteriemia, endocarditis o meningitis en humanos (Chuman *et al.*, 2003; Thompson *et al.*, 2000), ha sido aislado de ungulados, cerdos, humanos, aves y reptiles (Luber *et al.*, 2003; Skirrow, 1990). En 1985, Harvey y Greenwood publicaron un estudio sobre un caso de infección de *Campylobacter fetus* en un niño causada por una tortuga (Harvey *et al.*, 1985). Sin embargo, existen a pocos estudios sobre su prevalencia en tortugas.

Los agentes más importantes implicados en patologías respiratorias en quelonios son *Mycoplasma spp* y los virus del género Herpesvirus (Pasmans *et al.*, 2007). Los Herpesvirus son de especial importancia por su implicación en graves enfermedades de animales domésticos y del hombre. En un estudio reciente se puso en evidencia que uno de cada diez *Trachemys scripta scripta* está infectado, y como consecuencia son un foco de infección para otros galápagos. Sin embargo, hasta dónde hemos sido capaces de conocer no existe ningún estudio que recoja la prevalencia de este virus en *Emys orbicularis*.

*Emys orbicularis* (**Figura 2**) es conocida como “Galápagos europeo” y habita la mayor parte del continente europeo, exceptuando las Islas Británicas, Escandinavia y algunas zonas del centro. Existen indicios recientes de que la presencia cada vez más extendida de una especie invasora, *Trachemys scripta elegans*, muy agresiva ecológicamente, podría ocasionar el desplazamiento de la especie *Emys* en aquellas zonas donde conviven. Los galápagos de Florida compiten con las especies autóctonas (Cadi y Joly, 2003; 2004), teniendo una alimentación generalista (Parmenter y Avery, 1990, Marco *et al.*, 2003) y mayor tasa reproductiva y potencial reproductivo anual que aquéllas con las que convive (Andreu *et al.*, 2003). Desde finales de 1997 está prohibida la introducción en toda la Unión Europea de las tortugas de la especie *Trachemys scripta elegans*, según se establece en el Reglamento (CE) N° 2551/97 de la Comisión, de 15 de diciembre de 1997, por el que se suspende la introducción en la Unión Europea de especímenes de algunas especies de fauna y flora silvestres.



**Figura 2.** *Emys orbicularis*.

Este estudio se engloba dentro del proyecto europeo LIFE09-Trachemys para la “*Caracterización epidemiológica de galápagos, estrategia y técnicas demostrativas para la erradicación de galápagos invasores*”, coordinado por la Dirección General de Medio Natural de la [Consellería de Medi Ambient, Aigua, Urbanisme i Habitatge](#) de la Generalitat Valenciana. Este proyecto pretende poner freno a la pérdida de biodiversidad asociada a la presencia de galápagos exóticos en los ecosistemas acuáticos.



## 2. Material y Métodos

### 2.1 Población de estudio

Durante 4 meses (Julio-Octubre de 2012) se han realizado un total de 17 visitas a diferentes marjales de la Comunidad Valenciana, a razón de dos muestreos por semana. En cada visita se han muestreado tortugas pertenecientes al Marjal de Almenara, Marjal de Cabanes, Marjal del Grao de Castellón, Marjal de Peñíscola, Marjal de Pego-Oliva, Marjal de Pobra Tornesa, Marjal de la Safor-Gandia, Marjal dels Moros, Marjal de Villanueva de Alcolea, Marjal del río Vaca y Marjal de la desembocadura del río Xeraco. La colonización y el avance de las galápagos de Florida ha traído consigo la casi desaparición de zonas de población exclusiva de galápagos autóctonos, por lo que las poblaciones existentes en las marjales citadas anteriormente son en su mayoría mixtas, a excepción de la Marjal de Villanueva de Alcolea y la Marjal de Pobra Tornesa dónde son poblaciones exclusivas de *Emys*, y la Marjal del Grao de Castellón, la Marjal de Almenara y la Marjal de Xeraco (**Figura 3**) donde habitan poblaciones exclusivamente de *Trachemys*.



Figura 3 Marjal de Xeraco.



## 2.2 Muestreo del lote

|                   |   |
|-------------------|---|
| <b>Julio</b>      | Trampeo, Recogida de muestras y Análisis microbiológico |
| <b>Agosto</b>     | Trampeo, Recogida de muestras y Análisis microbiológico |
| <b>Septiembre</b> | Trampeo, Recogida de muestras y Análisis microbiológico |
| <b>Octubre</b>    | Trampeo, Recogida de muestras y Análisis microbiológico |
| <b>Noviembre</b>  | Análisis molecular                                      |
| <b>Diciembre</b>  | Análisis molecular                                      |
| <b>Enero</b>      | Análisis estadístico                                    |

Los animales de poblaciones libres fueron capturados por el personal de la Consellería mediante trampas (nasas de pesca de anguilas y trampas flotantes) (**Figura 4**), y transportados el mismo día hasta el Centro de recuperación de Fauna Salvaje “La Granja” en el Saler (Valencia). Una vez en el Centro, los galápagos se alojaron en cubetas individuales de plástico a las que se añaden dos litros de agua mineral embotellada y en las que permanecieron durante dos días. El personal de la Consellería también recogió muestras del agua de los marjales de dónde proceden los animales, que se almacenaron en recipientes estériles.



**Figura 4.** Trampas para captura de tortugas.

Al cabo de dos días tras su captura y llegada al Centro del Saler se realizó el muestreo de los animales mediante la toma de dos hisopos cloacales (**Figura 5**), dos orales (**Figura 6**), la recuperación del agua de la cubeta dónde se alojaron los animales y, la extracción de sangre (**Figura 7**).



**Figura 5.** Toma de muestras de hisopo oral.

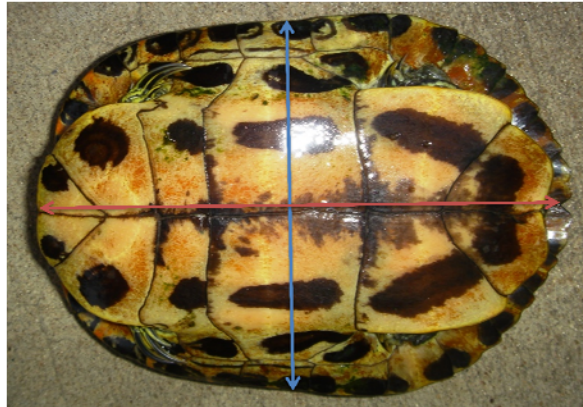


**Figura 6.** Toma de muestras de hisopo cloacal.



**Figura 7.** Extracción de sangre a partir del seno postoccipital.

Además se tomaron medidas de longitud y de anchura (**Figura 8**), así como registros del peso y del sexo de cada individuo, con el fin de caracterizar la población de estudio.



**Figura 8.** Toma de medidas de longitud y anchura

Se asignó un número correlativo a cada animal y a cada muestra de manera que todos los datos quedaron registrados en fichas individuales. Los hisopos cloacales se utilizaron para la determinación de *Salmonella* y de *Campylobacter*, mientras que los orales para el análisis de Herpesvirus y *Mycoplasma*. El agua recogida de las cubetas dónde se alojaron las tortugas (**Figura 9**) se utilizó para la determinación de *Salmonella* y *Campylobacter*, ya que la excreción de estos dos agentes zoonóticos ocurre de manera intermitente, y de este modo se conseguirá valorar de manera más sensible la prevalencia de la misma.



**Figura 9.** Recogida del agua de las cubetas.

Los individuos de la especie *Trachemys scripta scripta* se eutanasiaron de acuerdo con el programa de erradicación de esta especie invasora, mediante una dosis de 2-3 mL de pentobarbital (Doletal®) administrada en el seno venoso postoccipital (**Figura 10**).



**Figura 10.** Eutanasia de la tortuga.

Posteriormente se trasladaron a la sala de necropsias de la Facultad de Veterinaria de la UCH-CEU (en menos de 2 horas). Una vez allí se procedió a realizar la necropsia de cada individuo (**Figura 11**) y se extrajeron los dos riñones, una muestra de tejido muscular ( $\approx 1g$ ), tres porciones del último tramo del intestino grueso, así como los dos pulmones y la tráquea, manteniendo la integridad de cada uno de los órganos para evitar contaminaciones cruzadas.



**Figura 11.** Necropsia de la tortuga



### 2.3 Análisis microbiológico de las muestras

Para la detección y aislamiento de *Salmonella* se siguió la norma ISO 6579:2002 (Figura 12).

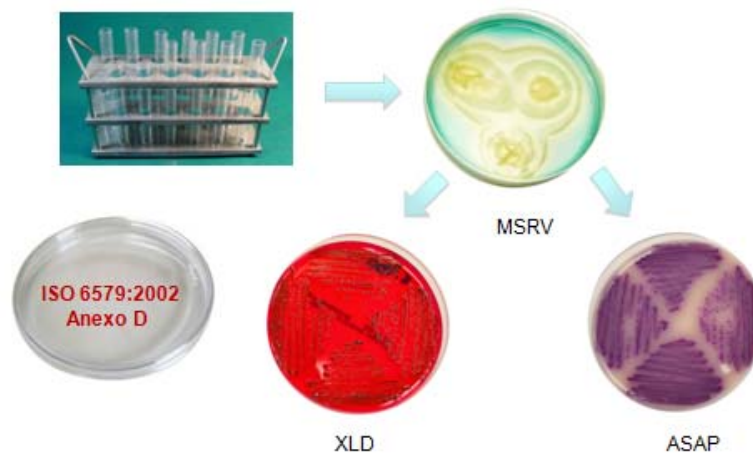


Figura 12. Aislamiento de *Salmonella* según la ISO 6579:2002

En el caso de *Campylobacter* se siguió la norma ISO 10272-1:2006 e ISO 10272-2:2006. Se realizó a partir de muestras de hisopos cloacales, de intestino, de agua de las cubetas y de agua de los marjales. En el caso de Herpesvirus y *Mycoplasma*, el aislamiento se realizará mediante PCR a partir de las muestras de pulmón y tráquea, de los hisopos orales, así como de la sangre, congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Además se realizó el análisis de microbiología general de las muestras correspondientes a uno de los riñones, un tramo de intestino grueso ( $\approx 2$  cm de longitud) y el lóbulo craneal de uno de los pulmones y el caudal del otro, dónde se realizó un aislamiento bacteriano general de cada una de las muestras. Se sembraron todas muestras en Agar Columbia con 5% de sangre de cordero y Agar MacConkey, a excepción de las muestras de intestino grueso que se sembraron también en Agar XLD (Xilosa, Lisina y Desoxicolato) y en caldo Rappaport-Vassidialis para el aislamiento de *Salmonella*, en Agar Skirrow para el aislamiento de *Campylobacter* y en agar TCBS (Tiosulfato, Citrato, Bilis Sacarosa) para aislar *Vibrio* spp. Para la identificación bioquímica de las colonias se utilizaron tiras API, API 20E (Biomeria, Francia) para enterobacterias y Gram-negativo no fermentadoras, API 20NE (Biomeria, Francia) para

Gram-negativo no enterobacterias, ID 32 GN (Biomeria, Francia) para la identificación de bacilos Gram-negativos, API 20 strep (Biomeria, Francia) para la identificación de *Streptococcus* y *Enterococcus*, ID 32 (Biomeria, Francia) para la identificación de *Micrococcus*, *Staphylococcus* y otros géneros relacionados y API 20A (Biomeria, Francia) para la identificación de microorganismos anaerobios.

El segundo riñón y la muestra de tejido muscular se guardaron en congelación (-20°C) y se remitirán al CSISP para analizar la presencia de metales pesados y la resistencia a antibióticos.



### **3. Resultados**

#### **3.1 Muestras analizadas**

Nº de sesiones realizadas: 22 muestreos

Nº de Marjales muestreadas: 11

- M. Almenara
- M. Cabanes
- M. Grao de Castellón
- M. la Safor
- M. dels Moros
- M. Pego-Oliva
- M. Peñíscola
- M. Río Vaca
- M. Xeraco
- M. Poble Tornesa
- M. Villanueva de Alcolea

Nº total de Tortugas analizadas: 200

Nº total de *Trachemys*: 117

Nº total de *Emys*: 83

Nº total de muestras analizadas: 723

Toma de muestra: Durante los meses de Julio a Octubre

- ✓ Muestras hisopos cloacales: 200
- ✓ Muestras agua de cubeta: 200
- ✓ Muestra agua de las Marjales: 24
- ✓ Muestras Intestino: 117
- ✓ Muestras de Riñón: 103
- ✓ Muestras de Pulmón: 103

### 3.2 Microorganismos analizados

#### 3.2.1 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Salmonella spp.*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=200$ ) el 12,5% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=83$ ) el 8,4% resultaron positivas.
  - Del total de *Trachemys* ( $n=117$ ) el 15,4% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Agua de Cubeta ( $n=200$ ) el 7,0% resultaron positivas.
  - Del total de Hisopos Cloacales ( $n=200$ ) el 3,0% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=117$ ) el 12,0% resultaron positivos.
  - Del total de Pulmones ( $n=117$ ) el 0,0% resultaron positivos.
  - Del total de Riñones ( $n=117$ ) el 0,0% resultaron positivos.
  - Del total de Agua de Marjal ( $n=24$ ) el 0,0% resultaron positivas.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> | <i>% de Emys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 60,0% ( $n=20$ )               | ( $n=0$ )                      |
| M. Cabanes               | 0,0% ( $n=3$ )                 | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. Grao de Castellón     | 26,7% ( $n=15$ )               | 50,0% ( $n=2$ )                |
| M. la Safor              | 9,5% ( $n=21$ )                | 0,0% ( $n=3$ )                 |
| M. dels Moros            | 0,0% ( $n=1$ )                 | 6,7% ( $n=15$ )                |
| M. Pego-Oliva            | 0,0% ( $n=12$ )                | 5,0% ( $n=20$ )                |
| M. Peñíscola             | 0,0% ( $n=14$ )                | 33,3% ( $n=6$ )                |
| M. Río Vaca              | 0,0% ( $n=21$ )                | 100,0% ( $n=1$ )               |
| M. Xeraco                | 0,0% ( $n=10$ )                | 0,0% ( $n=1$ )                 |
| M. Poble Tornesa         | ( $n=0$ )                      | 0,0% ( $n=18$ )                |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      | 14,3% ( $n=7$ )                |

$n$ : Tortugas analizadas

### 3. 2.2 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Escherichia coli*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 77,67% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ )
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 78,6% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones( $n=103$ ) el 36,0% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón( $n=103$ ) el 32,0% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 68,0% resultaron positivos.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 65,0% ( $n=20$ )               |
| M. Cabanes               | 100,0% ( $n=2$ )               |
| M. Grao de Castellón     | 70,0% ( $n=10$ )               |
| M. la Safor              | 85,7% ( $n=21$ )               |
| M. dels Moros            | 0,0% ( $n=1$ )                 |
| M. Pego-Oliva            | 100,0% ( $n=9$ )               |
| M. Peñíscola             | 100,0% ( $n=9$ )               |
| M. Río Vaca              | 62,0% ( $n=21$ )               |
| M. Xeraco                | 90% ( $n=10$ )                 |
| M. Pobla Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

$n$ : Tortugas analizadas

### 3.2.3 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Proteus spp.*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 29,1% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ ).
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 29,1% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones( $n=103$ ) el 10,7% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón( $n=103$ ) el 19,4% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 16,5% resultaron positivos.
- Según el tipo de Marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 15,0% ( $n=20$ )               |
| M. Cabanes               | 100,0% ( $n=2$ )               |
| M. Grao de Castellón     | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. la Safor              | 33,3% ( $n=21$ )               |
| M. dels Moros            | 100,0% ( $n=1$ )               |
| M. Pego-Oliva            | 22,2% ( $n=9$ )                |
| M. Peñiscola             | 44,4% ( $n=9$ )                |
| M. Río Vaca              | 23,8% ( $n=21$ )               |
| M. Xeraco                | 60,0% ( $n=10$ )               |
| M. Poblá Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

*n*: Tortugas analizadas

#### 3.2.4 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Vibrio spp.*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ), 1 resultó positiva en el marjal de Almenara.

#### 3.2.5 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Campylobacter spp*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=146$ ) el 0,0% resultaron positivas.

### 3.2.6 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Aeromonas hydrophila*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 81,6% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ )
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 81,6% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones ( $n=103$ ) el 54,4% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón ( $n=103$ ) el 50,5% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 63,1% resultaron positivos.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 80,0% ( $n=20$ )               |
| M. Cabanes               | 0,0% ( $n=2$ )                 |
| M. Grao de Castellón     | 60,0% ( $n=10$ )               |
| M. la Safor              | 90,5% ( $n=21$ )               |
| M. dels Moros            | 100,0% ( $n=1$ )               |
| M. Pego-Oliva            | 100,0% ( $n=9$ )               |
| M. Peñiscola             | 77,8% ( $n=9$ )                |
| M. Río Vaca              | 85,7% ( $n=21$ )               |
| M. Xeraco                | 80,0% ( $n=10$ )               |
| M. Poble Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

$n$ : Tortugas analizadas



### 3.2.7 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Edwardsiella tarda*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 10,7% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ )
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 10,7% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones( $n=103$ ) el 0,0% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón( $n=103$ ) el 0,0% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 10,7% resultaron positivos.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 20,0% ( $n=20$ )               |
| M. Cabanes               | 0,0% ( $n=2$ )                 |
| M. Grao de Castellón     | 20,0% ( $n=10$ )               |
| M. la Safor              | 4,8% ( $n=21$ )                |
| M. dels Moros            | 0,0% ( $n=1$ )                 |
| M. Pego-Oliva            | 11,1% ( $n=9$ )                |
| M. Peñiscola             | 0,0% ( $n=9$ )                 |
| M. Río Vaca              | 9,5% ( $n=21$ )                |
| M. Xeraco                | 10,0% ( $n=10$ )               |
| M. Poble Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

$n$ : Tortugas analizadas

### 3. 2.8 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Streptococcus spp.*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 2,9% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ )
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 2,9% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones( $n=103$ ) el 2,9% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón( $n=103$ ) el 0,0% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 0,0% resultaron positivos.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 0,0% ( $n=20$ )                |
| M. Cabanes               | 0,0% ( $n=2$ )                 |
| M. Grao de Castellón     | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. la Safor              | 9,5% ( $n=21$ )                |
| M. dels Moros            | 0,0% ( $n=1$ )                 |
| M. Pego-Oliva            | 0,0% ( $n=9$ )                 |
| M. Peñiscola             | 11,1% ( $n=9$ )                |
| M. Río Vaca              | 0,0%( $n=21$ )                 |
| M. Xeraco                | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. Poblá Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

$n$ : Tortugas analizadas

### 3.2.9 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Acinetobacter spp.*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 10,7% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ )
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 10,7% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones( $n=103$ ) el 3,9% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón( $n=103$ ) el 7,8% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 0,0% resultaron positivos.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 10,0% ( $n=20$ )               |
| M. Cabanes               | 0,0% ( $n=2$ )                 |
| M. Grao de Castellón     | 70,0% ( $n=10$ )               |
| M. la Safor              | 0,0% ( $n=21$ )                |
| M. dels Moros            | 0,0% ( $n=1$ )                 |
| M. Pego-Oliva            | 0,0% ( $n=9$ )                 |
| M. Peñiscola             | 22,2% ( $n=9$ )                |
| M. Río Vaca              | 0,0% ( $n=21$ )                |
| M. Xeraco                | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. Poble Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

$n$ : Tortugas analizadas

### 3.2.10 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Staphylococcus*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 6,8% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ )
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 6,8% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones( $n=103$ ) el 4,9% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón( $n=103$ ) el 3,9% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 0,0% resultaron positivos.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 15,0% ( $n=20$ )               |
| M. Cabanes               | 0,0% ( $n=2$ )                 |
| M. Grao de Castellón     | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. la Safor              | 9,5% ( $n=21$ )                |
| M. dels Moros            | 0,0% ( $n=1$ )                 |
| M. Pego-Oliva            | 11,1% ( $n=9$ )                |
| M. Peñiscola             | 0,0% ( $n=9$ )                 |
| M. Río Vaca              | 4,8% ( $n=21$ )                |
| M. Xeraco                | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. Pobla Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

$n$ : Tortugas analizadas

### 3.2.11 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Citrobacter freundii*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 1,0% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ )
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 1,0% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones( $n=103$ ) el 0,0% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón( $n=103$ ) el 0,0% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 1,0% resultaron positivos.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 0,0% ( $n=20$ )                |
| M. Cabanes               | 0,0% ( $n=2$ )                 |
| M. Grao de Castellón     | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. la Safor              | 0,0% ( $n=21$ )                |
| M. dels Moros            | 0,0% ( $n=1$ )                 |
| M. Pego-Oliva            | 0,0% ( $n=9$ )                 |
| M. Peñiscola             | 0,0% ( $n=9$ )                 |
| M. Río Vaca              | 4,8% ( $n=21$ )                |
| M. Xeraco                | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. Poblá Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

$n$ : Tortugas analizadas

### 3.2.12 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Klebsiella spp.*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 11,7% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ )
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 11,7% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones( $n=103$ ) el 4,9% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón( $n=103$ ) el 1,9% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 7,8% resultaron positivos.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 5,0% ( $n=20$ )                |
| M. Cabanes               | 0,0% ( $n=2$ )                 |
| M. Grao de Castellón     | 50,0% ( $n=10$ )               |
| M. la Safor              | 23,8% ( $n=21$ )               |
| M. dels Moros            | 0,0% ( $n=1$ )                 |
| M. Pego-Oliva            | 11,1% ( $n=9$ )                |
| M. Peñiscola             | 0,0% ( $n=9$ )                 |
| M. Río Vaca              | 0,0% ( $n=21$ )                |
| M. Xeraco                | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. Poblá Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

$n$ : Tortugas analizadas



### 3.2.13 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Alcaligenes spp.*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 7,8% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ )
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 7,8% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones( $n=103$ ) el 5,8% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón( $n=103$ ) el 3,8% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 1,0% resultaron positivos.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 0,0% ( $n=20$ )                |
| M. Cabanes               | 0,0% ( $n=2$ )                 |
| M. Grao de Castellón     | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. la Safor              | 19,0% ( $n=21$ )               |
| M. dels Moros            | 0,0% ( $n=1$ )                 |
| M. Pego-Oliva            | 0,0% ( $n=9$ )                 |
| M. Peñiscola             | 22,2% ( $n=9$ )                |
| M. Río Vaca              | 9,5% ( $n=21$ )                |
| M. Xeraco                | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. Poblá Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

$n$ : Tortugas analizadas

### 3.2.14 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Bacillus spp.*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 1,9% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ )
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 1,9% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones( $n=103$ ) el 1,9% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón( $n=103$ ) el 0,0% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 0,0% resultaron positivos.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 0,0% ( $n=20$ )                |
| M. Cabanes               | 0,0% ( $n=2$ )                 |
| M. Grao de Castellón     | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. la Safor              | 0,0% ( $n=21$ )                |
| M. dels Moros            | 0,0% ( $n=1$ )                 |
| M. Pego-Oliva            | 11,1% ( $n=9$ )                |
| M. Peñiscola             | 0,0% ( $n=9$ )                 |
| M. Río Vaca              | 0,0% ( $n=21$ )                |
| M. Xeraco                | 10,0% ( $n=10$ )               |
| M. Poble Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

$n$ : Tortugas analizadas

### 3.2.15 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Plesiomonas shigelloides*.

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 5,8% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ )
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 5,8% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones( $n=103$ ) el 1,0% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón( $n=103$ ) el 0,0% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 3,9% resultaron positivos.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 0,0% ( $n=20$ )                |
| M. Cabanes               | 0,0% ( $n=2$ )                 |
| M. Grao de Castellón     | 60,0% ( $n=10$ )               |
| M. la Safor              | 0,0% ( $n=21$ )                |
| M. dels Moros            | 0,0% ( $n=1$ )                 |
| M. Pego-Oliva            | 0,0% ( $n=9$ )                 |
| M. Peñiscola             | 0,0% ( $n=9$ )                 |
| M. Río Vaca              | 0,0% ( $n=21$ )                |
| M. Xeraco                | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. Poblá Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

$n$ : Tortugas analizadas

### 3.2.16 Promedio de recuentos de muestras analizadas: *Enterobacter spp.*

- Del total de tortugas analizadas ( $n=103$ ) el 7,8% resultaron positivas.
- Según la especie muestreada:
  - Del total de *Emys* ( $n=0$ )
  - Del total de *Trachemys* ( $n=103$ ) el 7,8% resultaron positivas.
- Según el tipo de muestra analizada:
  - Del total de Pulmones( $n=103$ ) el 6,8% resultaron positivas.
  - Del total de Riñón( $n=103$ ) el 0,0% resultaron positivos.
  - Del total de Intestino ( $n=103$ ) el 1,0% resultaron positivos.
- Según el tipo de marjal estudiada y especie muestreada:

| MARJAL                   | <i>Trachemys Positivas (%)</i> |
|--------------------------|--------------------------------|
| M. Almenara              | 5,0% ( $n=20$ )                |
| M. Cabanes               | 0,0% ( $n=2$ )                 |
| M. Grao de Castellón     | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. la Safor              | 9,5% ( $n=21$ )                |
| M. dels Moros            | 0,0% ( $n=1$ )                 |
| M. Pego-Oliva            | 44,4% ( $n=9$ )                |
| M. Peñiscola             | 11,1% ( $n=9$ )                |
| M. Río Vaca              | 0,0% ( $n=21$ )                |
| M. Xeraco                | 0,0% ( $n=10$ )                |
| M. Poblá Tornesa         | ( $n=0$ )                      |
| M. Villanueva de Alcolea | ( $n=0$ )                      |

$n$ : Tortugas analizadas

#### 4. Conclusiones

Los reptiles y los anfibios son hoy en día mascotas de gran popularidad en muchas familias debido a que son animales silenciosos, de gran colorido y que no suponen grandes cuidados. Entre los más populares encontramos tortugas, iguanas, serpientes, ranas etc. Sin embargo, se debe ser consciente de que a menudo los reptiles y los anfibios son portadores de microorganismos patógenos entre los que encontramos algunos de tanta importancia para Salud Pública como la *Salmonella*, segunda productora de zoonosis en la Unión Europea (EFSA, 2012). Estos microorganismos pueden ser transmitidos desde las mascotas a sus dueños a través del contacto directo con los reptiles o el agua de los recipientes.

En este estudio se ha caracterizado la flora microbiana de dos especies de tortugas, por un lado la especie *Trachemys scripta*, considerada una especie invasora y cuya comercialización está prohibida, sin embargo en los últimos años ha sido una mascota de gran popularidad y prolificidad que ha llegado a colonizar los marjales de nuestra Comunidad. Por otro lado, se ha caracterizado la especie autóctona de tortuga *Emys orbicularis*, propia de nuestras marjales, y que se encuentra protegida por las autoridades. Los galapagos del género *Trachemys* se han establecido en humedales ibéricos interfiriendo con las especies autóctonas con las que comparten dichos ecosistemas. El potencial invasor de esta especie es muy elevado, y el impacto en los ecosistemas que ocupa se hace cada vez más patente. Como depredadora, actúa contra la puesta y adultos de diferentes especies de peces y aves acuáticas, especialmente en la época reproductiva.

En referencia al estado sanitario de las poblaciones naturales de *Trachemys scripta*, se ha responsabilizado a esta especie de numerosos casos de salmonelosis en humanos, y especialmente en niños, que tenían a las tortugas como mascotas. En este contexto, la epidemiología de *Salmonella* en galápagos ha sido objeto de estudio prioritario durante años para las autoridades (Feeley y Treger, 1969; Mermin *et al.*, 1997; Woodward *et al.*, 1997; Lynch *et al.*, 1999; Torfoss y Abrahamsen, 2000; Rodgers *et al.*, 2002; CDC 2005; CDC 2007; CDC 2008; CDC 2010). Como consecuencia de la gran popularidad de estas tortugas, gran cantidad de ellas han sido abandonadas en los humedales, estableciendo colonias de animales invasores, que van desplazando a las especies autóctonas como *Emys orbicularis* con gran rapidez.

Poco se conoce sobre el estado sanitario de las poblaciones naturales de *T. scripta*. Los resultados obtenidos en este estudio a nivel de la Comunidad Valenciana, ponen en evidencia que las tortugas invasoras presentes en los marjales, representan un reservorio de *Salmonella* importante en nuestra Comunidad. Existen marcadas diferencias entre los diferentes marjales estudiados. Las poblaciones de quelonios con mayores prevalencias de *Salmonella* las encontramos en Vilanova d'Alcolea, Grao de Castellón, Almenara y Peñíscola, todas ellas situadas en la provincia de Castellón. Resultados acordes con un número elevado de brotes por *Salmonella* en hogares de la misma provincia donde se tenían tortugas de esta especie como mascota. Es especialmente llamativo, ver como los marjales con prevalencias más elevadas de *Salmonella* son aquellos poblados únicamente con la especie *Trachemys scripta*, la misma especie que durante tantos años se ha comercializado como mascota de moda en todo el mundo. Además también cabe destacar que en aquellas poblaciones mixtas en las que conviven especies invasoras y autóctonas la prevalencia media de *Salmonella* de las especies invasoras, prácticamente duplica la de las autóctonas (15,3% vs. 8,4%). Con prevalencias menores, que oscilan entre un 3 y un 8% de tortugas positivas, encontramos las poblaciones presentes en La Safor, Moro, Pego-Oliva y Rio Vaca.

Además de *Salmonella*, en la especie *Trachemys scripta* se han aislado otras especies bacterianas a partir de las muestras de intestino, pulmón y riñón. La especie más prevalente en todos los órganos fue *Aeromonas hydrophyla* (80,6%), bacteria que se aísla de forma habitual en reptiles, anfibios y peces (Mathewson y Dupont, 1992) y que puede transmitirse a otras especies acuáticas y producir enfermedad, especialmente en aquellos individuos con inmunidad más comprometida. La segunda especie aislada por orden de prevalencia es *Escherichia coli* (78,6%). Este microorganismo forma parte de la microbiota intestinal natural de los quelonios (Kaper et al., 2004). Se aislaron también otras especies bacterianas, que pueden causar patologías en otros reptiles y humanos en estado de inmunosupresión, aunque la prevalencia de las mismas fue mucho menor, entre ellas se incluyen *Alcaligenes* spp, *Proteus* spp, *Enterobacter* spp, *Staphylococcus* spp, *Klebsiella* spp, *Edwardsiella tarda*, *Plesiomonas shigelloide*, *Bacillus* spp, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter* spp y *Streptococcus* spp. Debido a la patogenicidad del género, se debe remarcar que se aisló una cepa de *Vibrio* spp en uno de los individuos capturados en el marjal de Almenara. Por último cabe destacar, que en ninguno de los individuos analizados se



aisló ninguna cepa de *Campylobacter* spp, el principal microorganismo causante de zoonosis en Europa, incluso por delante de *Salmonella* spp.

En conclusión, tras la realización de este estudio podríamos afirmar que las poblaciones invasoras de *Trachemys scriptans* presente en los marjales de la Comunidad Valenciana suponen un peligro sanitario tanto para otros reptiles, como peces autóctonos y aves acuáticas. Además, en trabajos futuros, sería de gran importancia, relacionar genéticamente los serotipos aislados de los marjales con aquellos que producen los brotes de salmonelosis en niños que tienen tortugas de este género en casa como mascotas. Por otro lado, es de gran importancia que se diseñen protocolos de manejo de especies invasoras del género *Trachemys* como mascotas y darles difusión con campañas de sensibilización. En estas campañas es de especial relevancia que se haga llegar a las familias el mensaje de no abandonar a los reptiles en las marjales (por el peligro que supone para otras especies); y también enseñarles a manejar en casa correctamente a las tortugas, para evitar que sufran infecciones por agentes patógenos, especialmente dirigidas a los niños que son la población más expuesta y susceptible a las infecciones.