

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA



“DETERMINACIÓN DE FLORA BACTERIANA EN CAVIDAD ORAL DE SERPIENTES DE
LA FAMILIA Boidae Y Colubridae EN EL PARQUE ZOOLOGICO NACIONAL DE EL
SALVADOR”

Por:

Andrea María Chinchilla Magaña
Mitzi Xochitl Henríquez Garciaguirre
Nargis Josefina Martínez Menjivar

Requisito para optar al título de:

Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Ciudad Universitaria, Abril de 2014

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL:

DRA. ANA LETICIA ZAVALETA DE AMAYA

DECANO:

ING. AGR. M.Sc. JUAN ROSA QUINTANILLA

SECRETARIO:

ING. AGR. M.Sc. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

Departamento de Medicina Veterinaria

Jefa del Departamento de Medicina Veterinaria

M.V.Z. María José Vargas Artiga

Docentes Directores

M.V.Z. Gustavo Antonio Figueroa López

Licda. Esmeralda María Martínez Umaña

Coordinador de procesos de graduación

M.V.Z. Oscar Luis Meléndez Calderón

RESUMEN

De 60 serpientes muestreadas, de la Familia Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador, se obtuvo un 46.7% de muestras negativas; es decir que no crecieron bacterias en las placas, crecieron bacterias contaminantes o no crecieron bacterias representativas. El 53.3% de las serpientes dio positivo a crecimientos de bacterias, las cuales fueron caracterizadas, encontrando la presencia de: *Enterobacter sp.* (3.3%), *Escherichia coli* (8.3%), *Hafnia alvei* (5.0%), *Proteus sp.* (6.7%), *Proteus mirabilis* (18.3%), *Proteus vulgaris* (6.7%), *Shigella sonnei* (1.7%), *Staphylococcus albus coagulasa (-)* (1.7%) y *Staphylococcus sp.* (1.7%). Estos resultados muestran afinidad con algunos obtenidos en investigaciones realizadas a nivel mundial sobre la flora bacteriana de la cavidad oral de serpientes. La familia Boidae mostro más diversidad de géneros y especies bacterianas: (*Enterobacter* (3.3%), *Escherichia* (3.32%), *Hafnia* (5.0%), *Proteus* (31.7%), *Shigella* (1.7%) y *Staphylococcus* (1.6%)) en comparación con la Colubridae (*Escherichia* (4.98%) y *Staphylococcus* (1.6%)).

Se ha relacionado la teoría que describe y clasifica las bacterias zoonóticas, con los resultados obtenidos encontrándose que un 10% de las bacterias con crecimiento representativo, se consideran patógenas para los seres humanos; siendo la *E. coli* en un 8.3% y la *Shiguella sonnei* en un 1.7%; ésta última causante de disentería bacilar en humanos.

Los resultados revelan, una estrecha relación entre el peso, la alimentación y componentes del terrario, con la especie **Boa constrictor** y el género *Proteus*, el cual es asociado con la estomatis en serpientes. Los análisis revelan que las variables independientes como son: longitud, sexo, peso, dentadura, alimentación, temperatura, iluminación y componentes o ambientación de los terrarios, afectan directamente las bacterias, como parte de la flora bacteriana normal presente en su cavidad oral; pudiéndose volver patogénicas para la salud de las serpientes del Parque Zoológico Nacional de El Salvador, bajo condiciones de estrés o condiciones inapropiadas en cada terrario y a través del contacto desencadenar una zoonosis al ser humano.

Palabras clave: tesis serpientes, tesis zoológico, boas bacterias de cavidad oral, bacterias cavidad oral serpientes.

AGRADECIMIENTOS

A NUESTROS DOCENTES DIRECTORES, M.V.Z. GUSTAVO ANTONIO FIGUEROA LÓPEZ Y LICDA. EN BIOLOGÍA ESMERALDA MARÍA MARTÍNEZ UMAÑA por apoyarnos, orientarnos y compartir sus conocimientos en el desarrollo de la investigación.

AL DR. RICARDO ESCOBAR DIRECTOR DEL PARQUE ZOOLOGICO Y PERSONAL, por creer en la importancia de la ejecución de investigaciones en el área de especies silvestres y por autorizarnos la realización.

A LA LICDA. GLORIA CALDERÓN, LICDA. CECILIA VIDES Y AL PERSONAL DEL LABORATORIO CLINICO, por permitirnos hacer uso de las instalaciones y compartir sus conocimientos y experiencias en el desarrollo de la metodología de laboratorio.

AL LICDO. VLADLEN HENRIQUEZ, MANUEL CORTEZ Y GERARDO RIVAS por su colaboración y respaldo.

AL LICDO. EN MATEMATICAS JOSE SALGUERO, por su orientación en el desarrollo de la metodología estadística.

A todas las personas que de manera directa o indirecta nos ayudaron a desarrollar la investigación.

ANDREA, MITZY Y NARGIS.

DEDICATORIA

A DIOS, LA VIRGEN DE GUADALUPE Y SAN FRANCISCO DE ASÍS, quienes a través de ese indescriptible amor, luz y soporte han sido mis mejores colegas.

A LAS MUJERES DE MI VIDA, mi madre, nana y hermana, por el apoyo en mi vida y carrera, por inspirarme a ponerle pasión al esfuerzo, por sus palabras y gestos de amor.

A MI PADRE Y HERMANO, por estar.

A MIS COMPAÑERAS DE TESIS, por las emociones compartidas.

A KAREN PAIZ (Q.E.P.D.), porque celebraríamos juntas estos logros. Te veo pronto amiga.

A MIS AMIGAS, AMIGOS Y COLEGAS, por el aguante, el cariño y la mano brindada.

A LOS ANIMALES, por permitirme retribuirles la inspiración y sensación de paz que me transmiten a través de la Medicina Veterinaria.

A LA MUSICA, EL CAFÉ Y LOS LIBROS, por acompañarme durante mi carrera.

ANDREA CHINCHILLA

A DIOS Y A LA VIRGENCITA SANTA, verdadera fuente de amor y sabiduría.

A MI PADRE, porque gracias a él sé que la responsabilidad se la debe vivir como un compromiso de dedicación y esfuerzo.

A MI MADRE, cuyo vivir me ha mostrado que en el camino hacia la meta se necesita de la dulce fortaleza para aceptar las derrotas y del sutil coraje para derribar miedos.

A MI HERMANO, HERMANA, SOBRINA Y CUÑADO el incondicional abrazo que me motiva y recuerda que detrás de cada detalle existe el suficiente alivio para empezar nuevas búsquedas.

A MI NOVIO, y mejor amigo de toda la vida que me alienta y da fuerza día a día para superar cualquier prueba y obstáculo.

A MIS MASCOTAS, mis fieles amigos de toda la vida.

A MIS FAMILIARES, VIEJOS AMIGOS y a quienes recién se sumaron a mi vida para hacerme compañía con sus sonrisas de ánimo y en especial a ti Gabriela Escobar, porque a lo largo de esta tesis me demostraste tu sincera amistad.

A MIS COMPAÑERAS DE TESIS, porque juntas logramos salir adelante, Andrea Chinchilla por tu apoyo y amistad.

Y finalmente a todos y cada uno de esos animalitos en el mundo por quienes realmente vale la pena este esfuerzo.

MITZI HENRIQUEZ.

A JEHOVÁ MI DIOS Y MI SEÑOR JESUCRISTO, por su infinito amor, por bendecirme, guiarme, cuidarme, brindarme sabiduría y la fuerza necesaria para concluir una fase muy importante de mi vida y por darme la oportunidad de disfrutar y aprender cada instante durante el recorrido de toda mi carrera.

A MI MADRE, por apoyarme en todo momento, por creer en mis capacidades y motivarme a salir adelante, por enseñarme los valores necesarios además de darme la libertad de tomar decisiones, a pesar que algunas veces me equivoqué, me tuvo paciencia y comprensión, cualidades que me ayudaron a madurar y a crecer como persona; y sobre todo por esforzarse al máximo para brindarme lo necesario durante toda mi vida.

A MIS HERMANAS, por su apoyo y comprensión en los difíciles momentos que atravesé, a mi hermana mayor por inspirarme a ser mejor cada día y a mi hermana menor porque me enseñó que debía tratar de ser un buen ejemplo para ella.

A TODAS MIS MASCOTAS, porque son mi principal inspiración debido al amor y lealtad que me han brindado, despertando en mi la necesidad de hacer más por ellas. También al resto de especies animales silvestres y de producción que me enseñan cada día la infinidad de oportunidades que tiene la medicina veterinaria.

AL RESTO DE MI FAMILIA, por tener fé en mí y enseñarme a luchar por lo que quiero.

A AMIGAS Y AMIGOS EN GENERAL, por brindarme todos esos momentos inolvidables y divertidos que me ayudaron a sobrellevar las situaciones difíciles de mi carrera.

NARGIS MARTÍNEZ

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIA.....	vi
ÍNDICE GENERAL.....	ix
ÍNDICE DE CUADROS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xvii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1. Antecedentes.....	2
2.1.1. Investigaciones a nivel mundial.....	2
2.1.2. Investigaciones realizadas en América.....	3
2.1.3. Investigaciones realizadas en Centro América.....	4
2.1.4. Investigaciones realizadas en El Salvador.....	4
2.2. Aspectos biológicos de las serpientes.....	4
2.2.1. Taxonomía y distribución.....	4
2.2.2. Anatomía y fisiología.....	5
2.2.3. Cavidad oral de las serpientes.....	13
2.2.4. Comportamiento.....	14
2.2.5. Alimentación.....	14
2.3. Mantenimiento de las serpientes.....	15
2.3.1. Descripción de los terrarios.....	15
2.3.1.1. Temperatura, humedad y ventilación.....	15
2.3.1.2. Diseño del terrario.....	16
2.3.1.3. Depósitos de agua y refugios.....	16
2.3.2. Descripción de los terrarios del Parque Zoológico Nacional de El Salvador.....	17
2.4. Procedimientos de laboratorio y microbiología de las bacterias.....	18

2.4.1.	Cultivos bacterianos, condiciones físicas necesarias para el desarrollo y características de los cultivos en placas.	18
2.4.2.	Frotis bacterianos y tinción de Gram	22
2.4.2.1.	Procedimiento para la tinción de Gram	23
2.4.3.	Características generales de las bacterias	24
2.4.3.1.	Enterobacterias	24
2.4.3.1.1.	Características del crecimiento	24
2.4.3.1.2.	Patogenia y patología	26
2.4.3.1.3.	Pruebas diagnósticas de laboratorio	28
2.4.3.2.	Estafilococos	29
2.4.3.2.1.	Características del crecimiento	29
2.4.3.2.2.	Patogenia y patología	30
2.4.3.2.3.	Pruebas diagnósticas de laboratorio	31
3.	JUSTIFICACIÓN	32
4.	HIPÓTESIS CIENTÍFICA	34
5.	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	34
5.1.	Objetivo General	34
5.2.	Objetivos Específicos	34
6.	MATERIALES Y MÉTODOS	35
6.1.	Materiales	35
6.2.	Metodología de campo	37
6.2.1.	Ubicación	37
6.2.2.	Duración de la investigación	37
6.3.	Descripción del estudio	37
6.4.	Metodología de laboratorio	39
6.5.	Metodología estadística	42
7.	RESULTADOS	44
7.1.	Análisis Univariado y Bivariado	44
7.2.	Análisis de Multivariable.	94
7.3.	Discusión de resultados	96
8.	CONCLUSIONES	99
9.	RECOMENDACIONES	100

10.	BIBLIOGRAFIA	102
11.	ANEXOS	106

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Identificación rápida y presuntiva bacterias entéricas gramnegativas según crecimientos en placas.	25
Cuadro 2. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el de la bacteria determinada.....	44
Cuadro 3. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de las bacterias clasificándolas como zoonóticas o no zoonóticas.	46
Cuadro 4. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de las serpientes con los géneros de las bacterias según clasificación taxonómica.	48
Cuadro 5. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el sexo determinado por cánulas.	50
Cuadro 6. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el sexo de la serpiente determinado por cánulas.....	52
Cuadro 7. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el peso en onzas según su número de clase (límite inferior y superior).	54
Cuadro 8. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el peso en onzas de la serpiente según su número de clase y límite inferior y superior .	56
Cuadro 9. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con su clasificación de acuerdo a la disposición de su dentadura.	58
Cuadro 10. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria y la clasificación de acuerdo a la disposición de la dentadura de la serpiente.	60
Cuadro 11. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con su clasificación según el tipo de alimentación que recibe.	62
Cuadro 12. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria y la clasificación de la serpiente según el tipo de alimentación que recibe.	64
Cuadro 13. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con la temperatura del terrario.....	66
Cuadro 14. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con la temperatura del terrario.....	68
Cuadro 15. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el número de serpientes por terrario.	70
Cuadro 16. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el número de serpientes por terrario	72

Cuadro 17. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el tipo de iluminación del terrario.	74
Cuadro 18. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el tipo de iluminación del terrario.	76
Cuadro 19. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con los componentes de ambientación del terrario.....	78
Cuadro 20. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con los componentes de ambientación del terrario.....	80
Cuadro 21. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con las bacterias aerobias aisladas de cada especie.	82
Cuadro 22. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con las bacterias anaerobias aisladas de cada especie.	84
Cuadro 23. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con la reacción al Gram.....	86
Cuadro 24. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con su morfología microscópica.	88
Cuadro 25. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de las serpientes con el pH de cada uno de los ejemplares muestreados.....	90
Cuadro 26. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el pH de cada uno de los ejemplares muestreados.	92
Cuadro 27. Codificaciones de la variable dependiente y categórica.....	94
Cuadro 28. Pronostico del análisis Multivariable.	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vista lateral de la anatomía interna de una serpiente.....	6
Figura 2. Hemipenes evertidos de una cría de <i>Python molurus bivittatus</i>	7
Figura 3. Esófago, vesícula biliar e intestino delgado de una <i>Python molurus bivittatus</i>	8
Figura 4. Porciones craneales de ambos pulmones de una <i>Python molurus bivittatus</i>	9
Figura 5. Corazón e hígado de una <i>Python molurus bivittatus</i>	9
Figura 6. Riñones de una <i>Python molurus bivittatus</i>	10
Figura 7. Placa dividida con medios diferenciales. A la izquierda agar sangre, a la derecha agar MacConkey.....	19
Figura 8. Sistema de anaerobiosis GasPack	21
Figura 9. Efecto <i>swarming</i> del crecimiento de <i>Proteus spp.</i> en placa de agar sangre	26
Figura 10. Crecimiento de colonias de <i>Staphylococcus spp.</i> en placa de agar sangre.....	30
Figura 11. Toma de muestra y frotis directo: a) Abertura de cavidad oral; b, c, d, e) toma de muestra; f) laminilla para frotis directo.	38
Figura 12. Toma de pH en saliva de serpientes: a) Tiras impregnadas con saliva de serpientes; b) Lectura de pH.....	39
Figura 13. Frotis directo y microscopia bacteriana: a,b) tinción al gram y observación bajo el objetivo de inmersión; c,d) determinación de microscopia bacteriana.....	40
Figura 14. Lectura de bacterias representativas o macroscopia: a,b) determinación de tamaño, bordes, elevaciones y otras características macroscópicas.	40
Figura 15. Pruebas realizadas para resultados de bacterias grampositivas	41
Figura 16. Pruebas para bacterias Gram positivas: a, b) muestras Gram positivas; c, d) pruebas de la catalasa y coagulasa.	41
Figura 17. Pruebas bioquímicas y determinación de bacterias: a) bacterias Gram negativas; b) diferentes pruebas bioquímicas realizadas; c, d) confrontación de los resultados con tablas para determinar enterobacterias.	42
Figura 18. Gráfico de análisis descriptivo de doble entrada relacionando el nombre científico de la serpiente con el de la bacteria determinada.	45
Figura 19. Grafico del análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de las bacterias clasificándolas como zoonóticas o no zoonóticas	47
Figura 20. Gráfico del análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de las serpientes relacionándolas con los géneros de las bacterias según clasificación taxonómica.	49

Figura 21. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el sexo determinado por cánulas.	51
Figura 22. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando el nombre científico de la bacteria con el sexo de la serpiente determinado por cánulas.	53
Figura 23. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el peso en onzas según su número de clase y límite inferior y superior.	55
Figura 24. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el peso en onzas de la serpiente según su número de clase y límite inferior y superior.	57
Figura 25. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con su clasificación de acuerdo a la disposición de su dentadura.	59
Figura 26. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria y la clasificación de acuerdo a la disposición de la dentadura de la serpiente.	61
Figura 27. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con su clasificación según el tipo de alimentación que recibe.	63
Figura 28. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria y la clasificación de la serpiente según el tipo de alimentación que recibe.	65
Figura 29. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con la temperatura del terrario.	67
Figura 30. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con la temperatura del terrario.	69
Figura 31. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el número de serpientes por terrario.	71
Figura 32. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el número de serpientes por terrario.	73
Figura 33. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el tipo de iluminación del terrario.	75
Figura 34. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el tipo de iluminación del terrario.	77
Figura 35. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con los componentes de ambientación del terrario.	79
Figura 36. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con los componentes de ambientación del terrario.	81

Figura 37. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con las bacterias aerobias aisladas de cada especie.	83
Figura 38. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con las bacterias anaerobias aisladas de cada especie.	85
Figura 39. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con la reacción al Gram.....	87
Figura 40. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con su morfología microscópica.	89
Figura 41. Grafica del análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de las serpientes con el pH de cada uno de los ejemplares muestreados.	91
Figura 42. Gráfico de análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el pH de cada uno de los ejemplares muestreados.....	93

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A- 1: Marcha de laboratorio para caracterización de bacterias de la cavidad oral en serpientes de la familia Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador	106
Cuadro A- 1. Población de serpientes de la Familia Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador.	120
Figura A- 1. Anatomía y radiografía lateral interna del tercio craneal de una serpiente.	121
Figura A- 2. Anatomía y radiografía lateral interna del tercio intermedio de una serpiente. .	121
Figura A- 3. Anatomía y radiografía lateral interna del tercio caudal de una serpiente.	121
Figura A- 4. Cráneo de una serpiente no venenosa donde se muestra la articulación del hueso cuadrado con la mandíbula.	122
Figura A- 5. Ecdisis de una serpiente.	122
Figura A- 6. Sexaje con sonda en una serpiente macho.	122
Figura A- 7. Grupos de dentición en serpientes: a) aglifas, b) opistoglifas, c) proteroglifas y d) solenoglifas.....	123
Figura A- 8. <i>Boa constrictor</i> del Parque zoológico Nacional de El Salvador matando a su presa por constricción.....	123
Figura A- 9. Ejemplar de <i>Lampropeltis getula</i> del Parque Zoológico Nacional de El Salvador sumergida en una pileta de agua.....	123
Figura A- 10. Ejemplar de <i>Python brongersmai</i> del Parque Zoológico Nacional de El Salvador en un tronco ofrecido como refugio.....	124
Figura A- 11. Ubicación geográfica del Parque Zoológico Nacional de El Salvador	124
Figura A- 12. Tabla para identificación de bacterias entéricas.	125
Figura A- 13. Matriz de datos ingresados al programa SPSS Statistics 21	126

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la popularidad de los reptiles, incluyendo a las serpientes, ha producido un incremento considerable en el número de ejemplares conservados en cautiverio como animales de compañía no convencionales.

Alrededor del mundo existen entre 3,500 a 4,000 especies de serpientes, de ellas una tercera parte habitan en América (15% venenosas y 85% no venenosas), 41 especies conforman la familia *Boidae* y *Colubridae*. De éstos, en El Salvador la única especie que habita de manera silvestre, es la *Boa constrictor* (conocida en el país como masacuata) y se contabilizan 28 géneros de *Colubridae*

En la cavidad oral de una serpiente sana, existen de forma natural diversas colonias de bacterias que en condiciones normales no representan ningún peligro para ella; dado que su sistema inmunológico se encuentra en condiciones óptimas. Cuando este equilibrio se ve alterado, por alguna enfermedad que se presente por manejo excesivo, humedad inadecuada, ventilación, alimentación y en general cualquier situación, que implique estrés para el animal; las bacterias se encontrarán en condiciones para reproducirse, e incluso abren las puertas para que ataquen otras bacterias secundarias, que al combinarse con las primeras, producen un efecto potencializado, causando diferentes patologías. Su principal importancia surge, debido a que la mayoría de estos microorganismos son patógenos oportunistas, formando parte de la flora orgánica normal, pudiéndoles causar enfermedades en periodos de inmunosupresión.

Por esta razón se decidió determinar la flora bacteriana de la cavidad oral, de las serpientes de las familias *Boidae* y *Colubridae*: Además de caracterizar los géneros y especies de las bacterias presentes en la cavidad oral, su clasificación de carácter zoonótico y se compararon los géneros de las bacterias encontradas entre cada familia de serpientes (*Boidae* y *Colubridae*). Por lo antes descrito se demostró la importancia que tiene la identificación de la flora bacteriana oral de serpientes no venenosas, pues está relacionada principalmente con la prevención de enfermedades en las serpientes y seres humanos.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Antecedentes

La flora bacteriana encontrada en la cavidad oral de las serpientes en diversas regiones del mundo es variada (Jorge *et al.* 1990 citado por Blandón Marín), se señalan como factores sugeridos para explicar estas diferencias los relacionados con la serpiente y con la metodología utilizada para los análisis microbiológicos. Con respecto al primero, hay que tener en cuenta la especie, su origen (hábitat natural o cautiverio). Entre los últimos, se incluyen los cuidados para no contaminar las muestras, el método utilizado en su conservación y el cultivo de éstas (Blandón, 2009).

Es necesario que en las colecciones de serpientes de cada país se realicen caracterizaciones de bacterias de las cavidades orales, buscando microorganismo que puedan causar enfermedades en las especies y/o a la vez puedan causar zoonosis por contacto en humanos.

2.1.1. Investigaciones a nivel mundial

En África, Asia, y países de América como Estados Unidos, Colombia, Brasil y Costa Rica, en los que serpientes venenosas y no venenosas encuentran un ambiente adecuado para la procreación y supervivencia, se han realizado más investigaciones al respecto, sobre todo por los casos de mordeduras, ya que estudios han revelado que no solo el veneno puede causar la muerte, sino también las bacterias que se inoculan en el momento. Esto ha llevado a la realización de proyectos sobre caracterizaciones de las bacterias de cavidad oral en colecciones herpetológicas. En el sur de Tailandia se han realizado cultivos del veneno e hisopado de la cavidad orofaríngea de serpientes de la especie *Calloselasma rhodostoma* recién capturadas, concluyendo que la cavidad oral contiene una mayor variedad de microorganismos en comparación al veneno, predominando las bacterias como *Enterobacter spp.* y *Pseudomonas spp.*, algunos *Staphylococcus spp.* y *Clostridium spp.* (Theakston *et al.* 1990 citado por Blandón Marín 2009).

En serpientes cautivas y de vida libre del Sur de África, se determinó que una especie bacteriana no se encuentra únicamente en una sola serpiente, en una misma especie, o

incluso en un mismo terrario o geografía, también revelo que la carga es menor en serpientes no venenosas. Las bacterias más cultivadas fueron *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Salmonella* y *Staphylococcus epidermidis* (Blaylock 2001).

2.1.2. Investigaciones realizadas en América

Estudios realizados en la flora de la serpiente *Crotalus durissus terrificus* en Brasil, compararon la microbiota aerobia de la cavidad oral, la cloaca y el veneno de la serpiente atrapada en vida silvestre y después de la cuarentena. En cavidad oral se determinó *Pseudomona aeruginosa*, *Morganella morganii* y *Escherichia coli* como los más prevalentes. También se mostró una diferencia en cuanto a la carga, ya que ésta disminuyó después del tiempo en cautiverio (Ferreira y Siqueira 2009).

En la Colección de víboras de la Familia Viperidae del Museo de historia natural de la Universidad de Cauca Colombia, como prevención en caso de mordeduras se realizó la caracterización de la Flora bacteriana oral demostrando que generalmente las bacterias aisladas son consideradas patógenas para el ser humano, siendo algunas *Morganella morganii*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Peptostreptococcus spp.* Además se aisló de las heces de uno de los ratones que se sirve como alimento *Aeromona hydrophila*, por lo que se comprueba que no se debe descartar que la flora de la presa influye en el tipo de flora que se pueda encontrar en la cavidad oral (Ayerbe y Henao *et al.* 2004).

En un Laboratorio farmacéutico de Cauca en Colombia, a partir de hisopados realizados a serpientes de la familia Viperidae fueron identificadas un total de veinte especies de bacterias pertenecientes a ocho familias y quince géneros; predominando los bacilos gram negativos de crecimiento aerobio (Blandón Marín 2009).

Dos estudios colombianos más del año 2002 que involucraron pacientes con mordedura de serpientes del género *Bothrops*, informaron complicaciones infecciosas entre un 16% y 30% de los pacientes. En el segundo estudio se reportó que los bacilos gram negativos fueron la principal causa de infección en los pacientes. (Pineda *et al.* 2002, citado por Blandón Marín 2009).

En Lima-Perú se tomaron hisopados de la cavidad oral de 15 especies de la familia *Boidae*, aparentemente sanas y todas mantenidas bajo cautiverio, con el objetivo de identificar especies de enterobacterias que formen parte de su flora bacteriana oral, para ser registradas y ayudar en el manejo preventivo de procesos infecciosos de las serpientes, así como para manejar adecuadamente infecciones secundarias provocadas por mordidas. Logrando el aislamiento de *Klebsiella sp.* (21.4%), *Proteus vulgaris* (14.3%), *Shigella sp.* (14.3%), *Salmonella arizonae* (7.1%), *Salmonella entérica* (21.4%), *Enterobacter gergoviae* (7.1%), *Escherichia coli* (7.1%) y *Enterobacter aerogenes* (7.1%). (Morales et al. 2012)

2.1.3. Investigaciones realizadas en Centro América.

En una investigación realizada en la Universidad de Costa Rica se comprobó que la carga de bacterias del veneno y la de cavidad oral no tiene una diferencia significativa en cuanto a géneros incluso cuando las serpientes vinieron de áreas geográficas con diferentes características ecológicas. Encontrando en ambos, *Proteus vulgaris*, *Proteus morgani*, *Proteus sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Clostridium* (Arroyo y Bolaños 1980).

2.1.4. Investigaciones realizadas en El Salvador.

En El Salvador se realizó una investigación sobre la determinación de bacterias de la flora normal en la tráquea de serpientes en el Parque Zoológico Nacional, en las que se incluyeron serpientes venenosas y no venenosas, encontrando *Staphylococcus coagulasa negativo*, *Aeromona hydrophila*, *Morganella morgani*, *Chryseobacterium indologenes*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas spp.*, *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Vibrio vulnificus* y *Salmonella choleraesuis* (Fuentes Campos 2011).

2.2. Aspectos biológicos de las serpientes

2.2.1. Taxonomía y distribución.

Las serpientes son reptiles, de Clase *Reptilia*, Orden *Squamata*, Suborden *Serpentes* (ofidios o serpientes). Alrededor del mundo existen 3,500 a 4,000 especies, de ellas una tercera parte habitan en América (15% venenosas y 85% no venenosas), 41 especies conforman la

familia Boidae y Colubridae. En la región Centroamericana se han registrado aproximadamente tres géneros de Boidae y 64 géneros de Colubridae que muestran una gran variedad morfológica y ecológica (Köhler, 2001). De estos en El Salvador la única especie que habita de manera silvestre es la *Boa constrictor* (conocida en el país como masacuata) y se contabilizan 28 géneros de Colubridae (Köhler *et al.* 2006).

Las serpientes de la familia Boidae, incluyen dos grupos principales, las boas, que son vivíparas y proceden de América del norte, central y del sur, y las pitones ovíparas de África, Asia y Australia. Son poderosas serpientes constrictoras que suelen ser animales domésticos populares debido a su gran docilidad. Son las serpientes más primitivas, tienen espolones vestigiales, dos arterias carótidas, y un hueso corónides (que es parte de la mandíbula y está ausente en las especies más evolucionadas). Tienen dos pulmones, algunas poseen un ciego y su cola es corta. Muchas tienen, en las escamas labiales superiores e inferiores, receptores especializados para detectar radiación infrarroja (O'Malley, 2007).

Los colúbridos, llamados serpientes típicas o culebras. Son las más ampliamente distribuidas (aunque no hay en Australia) y son especialmente comunes en América del norte. Comprenden desde las arbóreas hasta la acuáticas pasando por las terrestres. Algunas especies como la *Canophis lineatus* tienen los dientes inyectoros de toxinas en la parte posterior del maxilar, pero la mayoría de las especies no son peligrosas. Estas serpientes más evolucionadas tienen un solo pulmón funcional, el derecho, y una sola arteria carótida, la izquierda (O'Malley, 2007).

Serpientes como las pitón y las boas pueden vivir hasta 20-30 años, y los colúbridos aproximadamente 20 años (O'Malley, 2007).

2.2.2. Anatomía y fisiología.

La anatomía topográfica de las serpientes describe un cuerpo delgado y largo, los órganos suelen estar ordenados de uno en uno o de dos en dos a lo largo del cuerpo. Es conveniente dividir a la serpiente en tercios (tercio craneal, intermedio y caudal) (Figura A-1, Figura A-2 y Figura A-3) a lo largo o utilizar porcentajes de la longitud entre el morro y la cloaca cuando se describe la posición de varios de sus órganos (Meredith y Redrobe 2012).

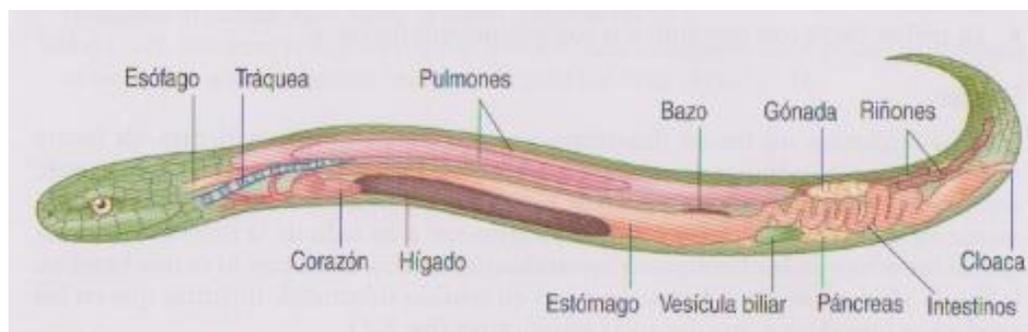


Figura 1. Vista lateral de la anatomía interna de una serpiente.

El esqueleto de las serpientes es más complejo que el de los mamíferos. Los huesos de la mandíbula están unidos de forma laxa para permitir una gran abertura de la boca, El hueso cuadrado (Figura A-4) que se articula con la mandíbula y el arco palatomaxilar es una articulación libre. Ésta se pone rígida bajo tensión pero es extremadamente flexible cuando se relaja de manera que la presa pueda ser tragada entera. Los huesos de la "nariz" se articulan con la región del cráneo para aumentar más el tamaño de la abertura. Las hemimandíbulas inferiores están conectadas por un ligamento elástico que permite la separación para aumentar todavía más la apertura de la boca (Meredith y Redrobe 2012).

La columna vertebral está conformada por vertebras, que según sea la especie varían entre 150 a más de 400, a partir de la tercera vertebra están provistas de costillas, salvo las lumbares, que no presentan más que apófisis transversales bifurcadas. Las vértebras coccígeas, igualmente sin costillas tienen apófisis simples. No tienen esternón ni cartílago costal. Cada costilla termina en punta redondeada que contacta con el interior de la piel del vientre para transmitir el movimiento (Meredith y Redrobe 2012).

Las serpientes no tienen cintura escapular y solo algunas especies presentan cintura pélvica. Algunos machos presentan espolones anales, presentes en todos los machos de boa constrictor, también pueden tenerlos algunas hembras en menor tamaño (Meredith y Redrobe 2012).



Figura 2. Hemipenes evertidos de una cría de *Python molurus bivittatus*

La piel de las serpientes está cubierta de escamas epidérmicas fuertemente queratinizadas, variando su forma, disposición y aspecto de una especie a otra, siendo por lo general carenas (con un leve relieve en el medio) en las serpientes venenosas y planas en las no venenosas. Las más importantes desde este punto de vista son las craneales, faciales, ventrales o gastrotegos, escamas anales y escamas caudales u urostegos. La parte posterior a la cloaca recibe el nombre de cola (Meredith y Redrobe 2012).

Especialmente los colúbridos arborícolas poseen una variación de la forma de las escamas ventrales. Resulta posible ordenar en series las culebras arborícolas, empezando por las placas ventrales de tipo plano. Luego las de placa ventrales doblada pero curva, en forma de "U". Después las de placa ventral con escasa quilla en la curva y finalmente, las que tienen una quilla aguda y una hendidura. La función principal de la quilla consiste en facilitar una esquina aguda o saliente que la serpiente oprime contra la corteza de los árboles consiguiendo así un mayor apoyo. Además de las quillas de las placas ventrales, estos ejemplares presentan tendencias evolutivas hacia una coloración verdosa y un cuerpo más alargado. Las de tipo excavadoras emplean la cabeza como taladro, retorciéndola a fin de vencer la resistencia del terreno. El escudo rostral o facial, es decir la escama de la punta del hocico, es la que corta el suelo. La cola de estas serpientes se ha adaptado y se ha hecho puntiaguda.

La piel por ser flexible pierde elasticidad por lo que las serpientes desprenden periódicamente su piel en un proceso conocido como muda o ecdisis (Figura A-5). El estrato basal o capa germinativa de la piel es activo de manera intermitente, y por tanto pueden existir simultáneamente dos capas diferentes de la piel, produciendo una capa epidérmica interna y otra externa. La parte más profunda de la capa externa cambia de estructura en los

días previos a la ecdisis, lo que hace que la piel tenga un aspecto turbio. La escama ocular se vuelve opaca y la serpiente suele estar aletargada y mostrar falta de apetito en esta fase. Aproximadamente 5-8 días antes de la ecdisis la piel se vuelve clara de nuevo, a medida que la capa epidérmica externa se rompe. La ecdisis tiene lugar después de 4-7 días más, y va inmediatamente precedida por un ligero deslustrado de color (Meredith y Redrobe 2012).

La muda comienza por los labios, conforme la serpiente va retirando la piel ésta se vuelve del revés aunque la parte final de la cola se puede desprender dependiendo de su posición anatómica. (Meredith y Redrobe 2012). Este proceso se repite de acuerdo a la alimentación, especie de serpiente, estado fisiológico y hábitat, puede ir desde una a ocho veces o más al año.

Las serpientes poseen faringe y esófago, que se diferencia del estómago por la membrana mucosa glandular. El intestino delgado está dispuesto en una espiral simple, mientras que el grueso es un tubo recto con la pared delgada. Presentan también páncreas, hígado y vesícula biliar. Las serpientes de la familia Boidae tienen un pequeño ciego. Las glándulas anales se encuentran caudalmente al orificio cloacal externo y desembocan en la cloaca (Meredith y Redrobe 2012).

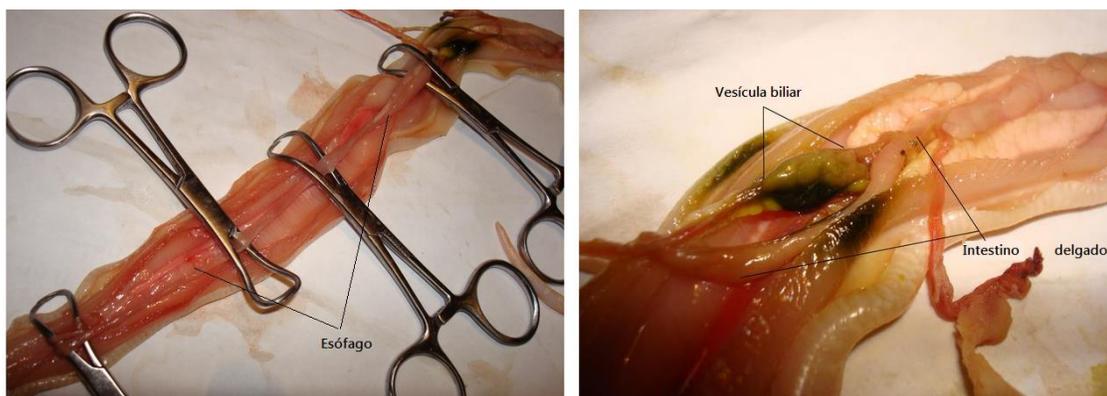


Figura 3. Esófago, vesícula biliar e intestino delgado de una *Python molurus bivittatus*

En el aspecto dorsal de la cabeza existen un par de orificios nasales que conducen a las narinas internas, no hay paladar duro. La laringe se encuentra en medio del suelo de la boca, la tráquea se bifurca justo caudal al corazón en aquellas serpientes que tienen dos pulmones. No existe el diafragma (Meredith y Redrobe 2012).

La mayoría de las especies de la familia Boidae tienen dos pulmones, aunque el pulmón derecho suele ser más grande. En las familias Colubridae y Viperidae el pulmón izquierdo es solo vestigial, y puede no estar presente en algunas especies (Meredith y Redrobe 2012).

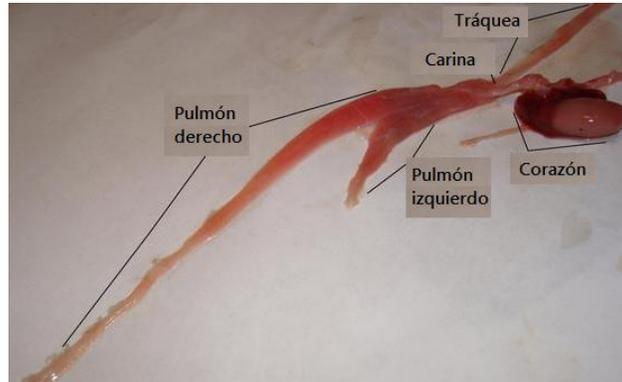


Figura 4. Porciones craneales de ambos pulmones de una *Python molurus bivittatus*

El corazón tiene tres cámaras, es largo y estrecho. Una única vena cava caudal y dos venas cavas craneales desembocan en el seno venoso que se encuentra en el aspecto dorsal del corazón. La aurícula derecha y el seno venoso son difíciles de distinguir externamente, pero internamente están separados por una válvula sinoauricular. El único ventrículo muscular se comunica con la aurícula a través de un par de válvulas auriculoventriculares. La sangre sale del ventrículo a través de las válvulas semilunares de los arcos aórticos derecho o izquierdo o de la arteria pulmonar (Meredith y Redrobe 2012).

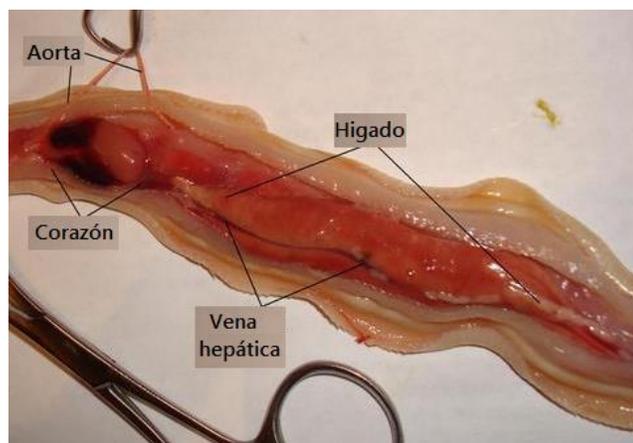


Figura 5. Corazón e hígado de una *Python molurus bivittatus*

El aparato urinario se comprende por dos riñones, el derecho se encuentra en una posición más craneal que el izquierdo. El par de uréteres desemboca directamente en el urodeum de la cloaca. No existe vejiga urinaria (Meredith y Redrobe 2012).

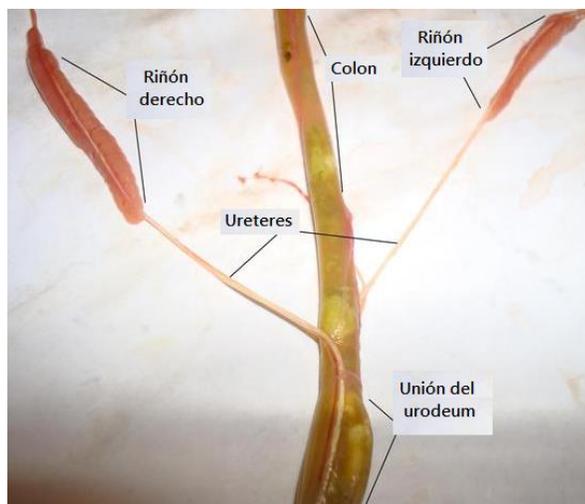


Figura 6. Riñones de una *Python molurus bivittatus*

En el macho, los testículos se encuentran craneales a los riñones y tienen forma de huso u oblonga (más largos que anchos). Los hemipenes se encuentran dentro de la cola, caudales a la cloaca, cuando se protuyen salen a través de la cloaca. En las hembras, el tamaño y la forma varían según el ciclo sexual. Se encuentran craneales a los riñones y pueden tener varios ovocitos redondos. El par de oviductos presentan pliegues y desembocan en la cloaca. Algunas especies solo tienen el oviducto derecho (Meredith y Redrobe 2012).

Muchas serpientes no tienen dimorfismo (variaciones en la fisonomía externa) ni dicromía (variaciones en cuanto a colores de escamas) sexuales evidentes. En cautiverio la forma más segura de sexarlas es mediante el sexaje con sonda (Figura A-6), en el que un bastoncillo con punta roma y bien lubricado se inserta suavemente en la cloaca y después se dirige a un lado de la línea media hasta que se introduce en los hemipenes invertidos del macho, si los hay (Jepson, 2011). En las hembras la sonda se puede insertar aproximadamente hasta una profundidad de dos a seis escamas ventrales; en los machos hasta una profundidad de siete a 15 escamas ventrales (Meredith y Redrobe 2012).

El tamaño corporal entre las diferentes especies de serpientes varía mucho, incluso entre los miembros de una misma especie. Comúnmente, las hembras son más grandes que los

machos. Es posible que el tamaño corporal esté relacionado con el dimorfismo sexual y la reproducción, ya que las hembras deben transportar y desarrollar los huevos o embriones, pese a ello los machos comparativamente poseen colas más largas, porque los hemipenes se retraen dentro de ella. La familia Boidae está compuesta por especies que miden entre cincuenta centímetros y diez metros de longitud, en promedio la mayoría miden un metro de longitud.

Las especies más pequeñas pueden alcanzar la madurez sexual en un año, pero las especies de mayor tamaño y más longevas, pueden no ser sexualmente maduras hasta los 5 años de edad (O'Malley, 2007).

En la reproducción las glándulas cloacales, localizadas en la parte interna de la cloaca, segregan una sustancia que juega un papel importante en la atracción sexual y de territorio. El macho inicia el cortejo moviendo su cuerpo sobre el de la hembra y frotando su cola contra ella. Si la hembra es receptiva, ésta dilata su cloaca y levanta su cola. La cópula puede durar entre 2 y 20 horas. Durante la cópula un hemipene es evaginado e insertado dentro de la cloaca de la hembra. El hemipene puede tener espinas y abultamientos (es las boas es liso), que le permiten permanecer dentro de la cloaca mucho tiempo. Finalmente es extraído por la acción del músculo retractor. Durante cubriciones seguidas el macho puede usar alternativamente el hemipene derecho y el izquierdo (O'Malley, 2007).

Las boas son vivíparas (paren crías vivas), a diferencia de los colúbridos que casi siempre es ovípara, aunque hay también especies ovovivíparas. Los nidos son bastantes desprolijos. Consiste en la elección de algún lugar relativamente tranquilo para poner sus huevos: a veces cavidades de troncos caídos. Los huevos, están puestos en racimos de dos o más según la especie, son elípticos y de un tamaño aproximado de 35 milímetros de largo por ocho de ancho. Su cáscara blanca y dura. El calor directo del sol y la fermentación de las sustancias orgánicas donde reposan se encargan de la incubación de los huevos que tardan unos ochenta días en eclosionar, según sean las épocas más o menos propicias.

La capacidad de visión de las serpientes es limitada y no es homogénea en las diferentes familias y géneros, sin embargo, en general la capacidad de acomodación del cristalino es bastante deficiente, enfocan gracias al movimiento de los músculos del iris; la miopía hace que su visión este más vinculada a la detección de movimientos que a la detección de

formas. Los ojos carecen de párpados ya que están fusionados formando, sobre la córnea, una lente protectora o lentilla, las glándulas lagrimales segregan dentro del espacio que queda tras la lente, y luego drenan a través del conducto nasolagrimal (O'Malley, 2007).

En cuanto a la audición, esta es muy rudimentaria, ya que carecen de oído externo y medio, sin embargo las serpientes no son sordas, pero su sensibilidad auditiva está limitada a bajas frecuencias, entre 150-600 Hz. Oyen capturando las vibraciones mediante el hueso cuadrado (que actúa como un tambor acústico) que las dirige hacia el oído interno y cerebro. Las serpientes no vocalizan entre ellas pero emiten sonidos de siseo como señales de aviso (O'Malley, 2007).

Además del epitelio olfatorio habitual, en las ventanas nasales, las serpientes tienen un órgano de Jacobson muy desarrollado. Está formado por un par de cavidades abultadas o fosas vomeronasales, recubiertas de epitelio sensitivo. La lengua bífida es proyectada a través de un surco en la boca, llamado agujero o fosa lingual, en donde se adhieren partículas olorosas procedentes del entorno. Luego inserta la bifurcación de la lengua en las fosas vomeronasales y así envía información al cerebro a través de los nervios olfatorios. La lengua es el órgano para el gusto, el tacto y el olfato (O'Malley, 2007).

Algunas serpientes poseen receptores, o fosas, especializados para detectar infrarrojos, que les permiten detectar presas de sangre caliente, atacarlas y atraparlas, incluso en completa oscuridad. En las víboras, estos receptores están situados entre las aberturas nasales y el ojo, a ambos lados de la cabeza. Boas y pitones tienen una serie de rendijas, más pequeñas y menos sensibles, en las escamas de los labios superior e inferior, cuyo patrón de distribución varía según la especie. Las fosas están ricamente inervadas mediante las ramas oftálmica, mandibular y maxilar del nervio trigémino. También son sensibles a cambios de temperatura tan pequeños como 0,003 °C. Estas informaciones térmicas combinadas con las visuales proporcionan a la serpiente una imagen general de lo que le rodea (O'Malley, 2007). La termorrecepción es una característica importante de la familia Boidae.

2.2.3. Cavidad oral de las serpientes

Las glándulas salivares de las serpientes producen copiosas cantidades de líquido durante la ingestión de la presa; durante el resto del tiempo existe muy poca saliva en la boca (Meredith y Redrobe 2012). El pH de su saliva varía de 6.5 a 9.8 (Skoczylas 1970).

De acuerdo con su dentición, las serpientes se dividen en cuatro grupos: aglifas, opistoglifas, proteroglifas y solenoglifas (Figura A-7). Las aglifas no tienen colmillos ni glándulas venenosas, tienen una glándula supralabial, la cual produce una secreción encargada de lubricar el alimento. Las serpientes de la familia Boidae poseen este tipo de dentición (Villalobos, 2008).

Las opistoglifas no tienen colmillos, pero poseen dientes más largos y modificados en la parte posterior del maxilar, los cuales tienen surcos longitudinales por donde baja por capilaridad la secreción de la glándula de Duvernoy. Esta glándula es especializada en la producción de sustancias biológicamente activas que pueden ser tóxicas. La posición de los dientes modificados en la parte posterior del maxilar hace difícil la inoculación de la secreción de la glándula. Muchas serpientes de la familia Colubridae son opistoglifas (Villalobos, 2008).

Las proteroglifas son serpientes que tienen un par de colmillos relativamente cortos en la parte anterior del maxilar, los cuales están conectados cada uno a través de un conducto con una glándula venenosa. Las solenoglifas son serpientes que poseen un especializado aparato inoculador (Villalobos, 2008).

En la cavidad oral de una serpiente sana existen de forma natural diversas colonias de bacterias que en condiciones normales no representan ningún peligro para ella dado que su sistema inmunológico se encuentra en condiciones óptimas y mantiene un equilibrio en la población de las mismas, cuando este equilibrio se ve alterado, ya sea por alguna enfermedad que se presente, manejo excesivo, humedad inadecuada, ventilación, alimentación y una zona de temperatura óptima preferida (POTZ, por sus siglas en inglés) (Yarto 2011) inadecuados y en general cualquier situación que implique estrés para el animal, las bacterias se encontrarán en condiciones para reproducirse e incluso se abren las puertas para que ataquen otras bacterias oportunistas que al combinarse con las primeras

producen un efecto potencializado produciendo diferentes patologías, especialmente estomatitis.

2.2.4. Comportamiento

El comportamiento de las serpientes no es muy sofisticado, ya que su desarrollo cerebral, comparado con el de las aves y mamíferos, es menos evolucionado y carecen de la capacidad de planear determinada actitud. Su comportamiento es totalmente ligado al instinto de supervivencia. Por lo general viven solas y se agrupan durante el apareamiento; estas agrupaciones son conocidas por los campesinos centroamericanos como "brama de culebras". Dependiendo de la especie, las serpientes pueden ser diurnas o nocturnas, así como terrestres, arborícolas o acuáticas (Villalobos, 2008).

2.2.5. Alimentación

Las serpientes, con excepción de una especie (*Leptotyphlops phenops*) son carnívoras y su alimentación se basa en la ingestión de diversos animales, por ejemplo artrópodos, reptiles, peces, roedores y anfibios pequeños. Las arborícolas se alimentan en especial de aves y murciélagos. Algunas no venenosas se alimentan exclusivamente de serpientes y se les llama ofiófagas. En cautiverio pueden llegar a practicar el canibalismo accidental (Villalobos, 2008).

Las Boas son constrictoras y matan a sus presas apretándolas hasta causarles una muerte por asfixia (Figura A-8). Se alimentan principalmente de mamíferos, pájaros y otros vertebrados (Meredith y Redrobe 2012).

Los colúbridos, pueden matar a sus presas a través de la constricción o toxinas que algunas veces pueden ser de riesgo para los humanos. Su dieta alimentaria se compone de pequeños vertebrados, en particular, de reptiles y anfibios. Varias especies atacan a mamíferos pequeños, otras a los pájaros y algunas devoran peces de cierto tamaño. Las de menores dimensiones se conforman con gusanos, insectos y sus larvas. Las especies que se nutren de ranas y peces, se tragan a sus presas vivas, mientras las que se alimentan de lagartijas, pájaros y mamíferos, generalmente dan muerte a la víctima antes de engullirla. En cautiverio la mayoría de serpientes comen ratas o ratones, las acuáticas se recomienda

alimentarlas con peces vivos para evitar las deficiencias y a las constrictoras de mayor tamaño con conejos y pollos (Meredith y Redrobe 2012).

Los miembros de la familia Boidae tienen un metabolismo más lento que los colúbridos. Cuando alcanzan la edad adulta, a los boidos en cautiverio se les debe disminuir gradualmente a una comida cada 2-4 semanas (Meredith y Redrobe 2012).

2.3. Mantenimiento de las serpientes

2.3.1. Descripción de los terrarios

Las serpientes por norma se tienen que mantener en alojamientos individuales, en serpentarios es menos frecuente que esto suceda, es por ello que la jaula o terrario debe ser adecuado y permitir el comportamiento normal de la especie. Como regla, la diagonal del terrario debe corresponder aproximadamente a la longitud de la serpiente (Meredith y Redrobe 2012).

Los terrarios deben ser a prueba de fugas y proporcionar una ventilación adecuada. Para la mayoría de colúbridos o boidos los terrarios de concreto y cristal suelen ser los más adecuados. Los de madera, si son utilizados, se tienen que sellar con poliuretano para evitar su deterioro y la formación de moho (Meredith y Redrobe 2012).

2.3.1.1. Temperatura, humedad y ventilación.

A pesar de estar clasificadas como poiquilotermas, las serpientes tienen un POTZ, un intervalo de temperaturas en el que tienen lugar los procesos fisiológicos, como las funciones inmunológicas, digestivas y reproductivas (Meredith y Redrobe 2012).

La mayoría de las serpientes tropicales se pueden mantener entre 25 y 30°C y las serpientes de climas templados se pueden mantener entre 22 y 26°C. El límite alto de estos intervalos se puede proporcionar con luces incandescentes. Para las serpientes más grandes, lo mejor para mantener su temperatura central es regular la temperatura de la habitación a 26°C. Si es necesario es recomendable disminuir la temperatura de 2-5°C por la noche (Meredith y Redrobe 2012)

2.3.1.2. Diseño del terrario

En términos generales, el diseño se puede clasificar en los tipos que proporcionan alojamiento para las especies excavadoras, las que habitan en el suelo, las semiacuáticos y las arborícolas. En las especies excavadoras el material del sustrato o de la zona de descanso no debe ser tóxico si se ingiere, tiene que ser fácil de retirar de la jaula y resistente a la colonización microbiana (Meredith y Redrobe 2012).

A las serpientes excavadoras como las boas de la arena, que se encuentran en los hábitats secos del desierto, hay que proporcionarles varias pulgadas de arena fina. El papel periódico o las virutas de madera (excepto el cedro) son adecuados para las serpientes que habitan en el suelo como la boa constrictora, la pitón real y la mayoría de los colúbridos. Otras especies de la familia Boidae que viven en el suelo necesitan niveles de humedad superiores, y hay que proporcionarles un cuenco poco profundo que contenga musgo húmedo del género *Sphagnum* (Meredith y Redrobe 2012).

Los colúbridos semiacuáticos se tienen que mantener en un sustrato seco parecido al de las serpientes que viven en el suelo, pero deben tener un cuenco de agua relativamente grande (Meredith y Redrobe 2012).

En las especies arborícolas se necesitan accesorios por los que poder escalar, como ramas de árbol dispuestas horizontalmente a diferentes alturas. La mayor necesidad de humedad se puede satisfacer con musgo del género *Sphagnum* como sustrato, plantas vivas y pulverización diaria de agua. Es importante una ventilación adecuada para contrarrestar el potencial efecto nocivo del aire húmedo estancado (Meredith y Redrobe 2012).

2.3.1.3. Depósitos de agua y refugios

Todas las serpientes necesitan un cuenco de agua poco profundo. A la mayoría de las especies, con la excepción de las serpientes arborícolas, les gusta pasar periódicamente algún tiempo sumergidas en agua, especialmente ante de la ecdisis (Figura A-9). Estos hay que desinfectarlos una vez a la semana con una solución adecuada como por ejemplo clorhexidina (Meredith y Redrobe 2012).

También hay que proporcionar un refugio a las serpientes, ya que les brinda seguridad y disminuye su estrés (Figura A-10). Las serpientes que no tienen donde esconderse suelen sufrir erosiones en la zona perinasal, lo que puede conducir a una infección y consiguientes problemas de muda (Meredith y Redrobe 2012).

2.3.2. Descripción de los terrarios del Parque Zoológico Nacional de El Salvador

La colección de serpientes, en el herpetario del Parque Zoológico Nacional de El Salvador, está distribuida en 28 recintos donde alojan a más de 80 serpientes de diferentes familias, entre venenosas y no venenosas. Cada uno está adaptado para brindar las condiciones óptimas del hábitat para cada ejemplar.

Los 3 recintos de las boas, nicaragüenses, colombianas y masacuatás, respectivamente; están conformados por piso de tierra, con un estanque pequeño de agua, 3 paredes de cemento y una de vidrio, con una puerta lateral en la parte posterior del recinto, cuentan con luz natural y se les han colocado troncos de árboles para que trepen por ellas.

El recinto de las 3 pitones indios y anaconda amarilla, está dividido en 2 áreas, en un sector se encuentra un estanque que mide aproximadamente 3 metros de largo por uno de ancho y el otro sector es de piso de tierra con troncos de árboles y también posee luz natural, tiene 2 paredes de cemento, una de vidrio y en la parte posterior esta la compuerta de metal donde entran los encargados de alimentar y limpiar el recinto.

Las serpientes de la familia Colubridae se alojan individualmente. La mayoría de los recintos miden aproximadamente 90 centímetros de ancho por 70 de alto, no poseen estanque de agua, constan de un piso de tierra con follaje y rocas pequeñas, poseen luz natural y en algunos casos luz artificial. Los recintos de los colúbridos más grandes también son de mayor tamaño y contienen los mismos elementos del terrario de los demás.

2.4. Procedimientos de laboratorio y microbiología de las bacterias

2.4.1. Cultivos bacterianos, condiciones físicas necesarias para el desarrollo y características de los cultivos en placas.

El cultivo es el proceso de proliferación de microorganismos al proporcionarles un entorno con condiciones apropiadas. Los microorganismos en proliferación producen réplicas de sí mismos, necesitan nutrientes y factores físico-químicos para su reproducción bacteriana. Para ello es también necesario que las bacterias cuyo crecimiento se desea, se inocule a partir de una buena muestra que sea representativa (UES 2012).

Desde los tiempos de Robert Koch (1843-1910) hasta la actualidad, el agente solidificante utilizado por excelencia en medios de cultivo es el agar. Este se obtiene a partir de algas marinas roja, especialmente del género *Gellidium* y tiene características muy deseables para el propósito que se persigue: es muy soluble en agua, resistente a la actividad de la mayoría de los microorganismos, funde a 98°C y en medios de cultivo solidifica entre 42 y 45°C. Entre los tipos de medios de cultivo se encuentran:

- Medios enriquecidos: los cuales la adición de sangre, suero o extractos de tejidos de animales y plantas al caldo nutritivo o agar, le proporciona sustancias nutritivas complementarias para que el agar pueda soportar el crecimiento de las bacterias (Prescott, 2004).
- Medios selectivos: adición de ciertas sustancias químicas específicas las cuales no permitirán el desarrollo de un grupo de bacterias, sin inhibir al mismo tiempo el desarrollo de otros grupos (Prescott, 2004).
- Medios diferenciales: adición de ciertos reactivos o sustancias químicas a los medios de cultivo trae como resultado determinado tipo de crecimiento bacteriano o de cambios, después de la siembra e incubación del medio, lo cual permite diferenciar tipos de bacterias (Prescott, 2004).



Figura 7. Placa dividida con medios diferenciales. A la izquierda agar sangre, a la derecha agar MacConkey.

- Medios para caracterizar bacterias: sirven para determinar el tipo de crecimiento producido por los organismos, así como la capacidad de las bacterias para producir cambios químicos (Prescott, 2004).
- Medios de mantenimiento: sirven para preservar satisfactoriamente las características fisiológicas y la viabilidad del cultivo (Prescott, 2004).

Los medios de cultivo pueden ser una combinación de estas características. Así, el agar Sangre es un medio enriquecido, diferencial (por el tipo de hemólisis) y no selectivo (crecen bacterias gramnegativas y grampositivas). El agar MacConkey, en cambio, es clasificado como selectivo (se utiliza para hacer crecer bacilos entéricos gramnegativos) y diferencial. Los componentes principales de este medio son lactosa (sustrato principal), rojo neutro (indicador de pH), cristal violeta (inhibe bacterias gram positivas), sales biliares (inhiben otras bacterias coliformes), peptona. (UES, 2012).

Además de dar los nutrientes apropiados necesarios para el cultivo de bacterias, también es necesario proporcionar condiciones físicas al medio en donde el microorganismo pueda desarrollarse mejor. Así como las bacterias varían ampliamente en relación a sus necesidades nutricionales, también muestran respuestas diversas a las condiciones físicas del medio. Dicho de otra manera, para un buen cultivo de las bacterias se necesita combinar apropiadamente los nutrientes necesarios y las condiciones físicas adecuadas (Pelczar, 1982).

Ya que el proceso de desarrollo de las bacterias dependen de reacciones químicas y la velocidad con que se efectúan estas reacciones es influida por la temperatura, el patrón de desarrollo bacteriano puede ser influido profundamente por esta condición. La temperatura puede, en parte determinar la velocidad de crecimiento y el grado total de desarrollo de los microorganismos. Las variaciones en la temperatura también pueden influir en los procesos metabólicos y en la morfología celular. Cada especie de bacterias crece a temperaturas que están dentro de ciertos límites, de acuerdo a esto las bacterias se dividen en grupos cuyos grados de crecimiento varían entre los 0° C o menos, a temperaturas superiores a 45° C ó 60 °C (Pelczar, 1982).

Por otra parte, además de la temperatura de incubación, las necesidades de gases que se les proporciona a las bacterias para su desarrollo debe ser el adecuado, ya que no solo existen bacterias que crecen en presencia de oxígeno (aerobias), sino aquellas que lo hacen en la ausencia de este (anaerobias), aquellas que son facultativas, es decir que lo hacen en ausencia o presencia y las microaerófilas que se desarrollan en presencia de pequeñas cantidades de oxígeno libre (Pelczar, 1982).

Las bacterias anaerobias son muy susceptibles al oxígeno del aire. Si los anaerobios en la muestra entran brevemente en contacto con aire, pierden muy rápidamente su viabilidad (capacidad de reproducirse en cultivo), es por ello que no debe pasar más de 10 minutos para transportar este tipo de muestras al laboratorio. Si no es posible transportarla con esta rapidez la muestra debe inocularse en un frasco o dispositivo especial que contenga la anaerobiosis (Torres, 1996).

Es recomendable utilizar el sistema de anaerobiosis GasPack que consiste en una jarra y un sobre que contiene hidrógeno más generador de dióxido de carbono y catalizador de paladio a temperaturas de laboratorio, al reaccionar el hidrógeno con el oxígeno crean condiciones de anaerobiosis. Bajo este sistema también se pueden desarrollar bacterias facultativas (Pelczar, 1982).



Figura 8. Sistema de anaerobiosis GasPack

Después de la inoculación-siembra del medio de cultivo y la incubación, se pueden determinar las características de cultivos del microorganismo. Los aspectos más peculiares de desarrollo en cada uno de los medios, de manera que las características de las colonias en placas de agar se resumen de la manera siguiente (Pelczar, 1982).

- **Tamaño.** Los límites de tamaño de las colonias varían desde muy pequeñas que miden fracciones de milímetros de diámetro, hasta colonias muy grandes que miden 5 ó 10 mm de diámetro. La mayoría de las bacterias que forman colonias de tamaños limitados de acuerdo con el periodo de incubación. Otras como algunas especies de *Proteus*, se desarrollan sobre toda la superficie del agar (Pelczar, 1982).
- **Margen o borde.** Los bordes de las colonias bacterianas varían según la especie. Pueden formar círculos perfectos, como las orillas de una gota, o mostrar gran variedad de irregularidades como salientes redondas, hendiduras irregulares, proyecciones filiformes, o proyecciones en forma de raíz (Pelczar, 1982).
- **Elevaciones.** Las colonias pueden ser muy finas (aplanadas) o gruesas (elevadas). Las colonias elevadas muestran diferentes grados de convexidad (Pelczar, 1982).

- *Cromogénesis o pigmentación.* Esta es una de las características más notables de los cultivos. No todas las especies bacterianas poseen esta característica de distinción. Las colonias pueden o no estar pigmentadas, en algunas especies productoras de pigmento, este es retenido dentro de las células de manera que la masa se colore, mientras que otras el pigmento se excreta y lo que se colorea es el medio de cultivo (Pelczar, 1982).
- *Características ópticas.* Las hay opacas, transparentes u opalescentes (Pelczar, 1982).

2.4.2. Frotis bacterianos y tinción de Gram

Las bacterias también pueden ser estudiadas por medio de la observación al microscopio, toda vez que el microorganismo sea coloreado. Este procedimiento, llamado también tinción permite determinar la forma, tamaño y agrupación de las bacterias. Sin embargo, el éxito de una buena tinción de bacterias depende en primer lugar de la preparación de un frotis conveniente del microorganismo. Los frotis son extendidos de microorganismos (aislados a partir de cultivos) o de especímenes, colocados en un portaobjeto limpio y desengrasado, secados con calor suave y coloreados con diversos métodos de tinción (UES, 2012).

El primer paso en la preparación de un frotis bacteriano difiere de acuerdo a la fuente del microorganismo. Si el microorganismo se encuentra en un medio líquido (orina, saliva, caldo, etc.) se inicia colocando 1 ó 2 "asadas" del medio líquido directamente sobre el portaobjetos (UES, 2012).

Las bacterias pueden teñirse con una amplia variedad de colorantes tales como: azul de metileno, cristal violeta, fucsina y safranina. Los dos métodos más importantes son: La técnica de Gram y la técnica de alcohol-acido resistente, en la que se emplea coloración, decoloración y tinción de fondo (coloración de contraste) para lograr la clasificación de la bacteria de acuerdo a su unión específica por los colorantes. La tinción de Gram es indudablemente la más utilizada. Aunque la técnica parezca simple su realización requiere de práctica y experiencia, por tanto se recomienda hacer un frotis delgado; y poner especial atención al proceso de decoloración (UES, 2012).

Para lograr Las bacterias fijadas al portaobjeto por el calor son teñidas con un colorante básico (cristal violeta o violeta de genciana) el que es captado en forma similar por todas las bacterias. Luego se aplica una solución de yodo o lugol, que actúa como mordiente (fijación) del cristal violeta. En este momento del proceso, todas las bacterias se tiñen de violeta. Posteriormente, las bacterias son tratadas con una mezcla de alcohol-acetona (70:30) para la decoloración del frotis. Las bacterias grampositivas retienen el complejo cristal violeta-lugol, permaneciendo de color violeta; las gramnegativas se decoloran completamente por el alcohol-acetona.

Por último se aplica safranina, que es un colorante rojo; de esta manera, las bacterias gramnegativas, previamente decoloradas, toman el color de la safranina (rojo) (UES, 2012).

2.4.2.1. Procedimiento para la tinción de Gram

- a) Se cubre el frotis con cristal violeta y se mantiene así durante un minuto, posteriormente se decanta el colorante.
- b) Se lava el exceso con agua corriente del grifo, usando un frasco lavador y se escurre.
- c) Posteriormente es cubierto con solución de Lugol para Gram durante un minuto.
- d) Se decanta el reactivo, lava el exceso con agua y se deja escurrir.
- e) Se inclina la lámina para eliminar el Lugol por goteo, y decolora el frotis con alcohol-acetona por 10 a 20 segundos. Este paso es crítico. Frotis gruesos requerirán más tiempo que frotis delgados. La decoloración ocurrirá cuando el solvente fluye incoloro de la lámina.
- f) El frotis se lava rápidamente con agua de chorro procurando que esta deslice suavemente sobre la superficie del extendido, esto evita la excesiva decoloración o la remoción completa del complejo cristal violeta-lugol de aquellas bacterias que son Grampositivas.
- g) Se procede a cubrir la preparación con solución de safranina durante 1 minuto.
- h) Se decanta el colorante, luego se lava con agua de chorro y dejar escurrir.
- i) Se seca cuidadosamente con papel toalla la preparación o seca a temperatura ambiente.
- j) Se procede a observar al microscopio compuesto o de luz clara bajo el objetivo de inmersión.

Los resultados se reportan en base a la coloración de la pared celular, es decir si son gram positivos o gram negativos, así como la morfología (cocos o bacilos), agrupación y cantidad. (Torres 1996).

2.4.3. Características generales de las bacterias

2.4.3.1. Enterobacterias

Las Enterobacteriáceas son un grupo vasto heterogéneo de bacilos gramnegativos cuyo hábitat natural es el intestino de humanos y animales. Esta familia incluye muchos géneros (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* y otros) (Brooks *et al.* 2002).

Algunos bacilos entéricos como la *E. coli*, forman parte de la flora normal del intestino grueso de los animales, especialmente los homioi térmicos, incluyendo el hombre. (Acha y Szyfres, 2001). En ocasiones causan enfermedad; en tanto que otros, *Salmonellas* y *Shiguelas*, con gran frecuencia son patógenos para humanos. Las enterobacteriáceas son microorganismos aerobios, fermentan una amplia variedad de carbohidratos, poseen una estructura antigénica compleja y producen varias toxinas y otros factores de virulencia. Estas bacterias son bacilos gramnegativos dotados de movilidad, crecen sobre medios como agar sangre y agar MacConkey, son anaerobios facultativos, fermentan la glucosa en vez de oxidarla y con frecuencia producen gas; son catalasa-positivo, oxidasa-negativo y reducen el nitrato a nitrito. (Brooks *et al.* 2002).

2.4.3.1.1. Características del crecimiento

La *E. coli* y la mayor parte de las otras bacterias entéricas forman colonias lisas, circulares, convexas, con bordes bien diferenciados. Las colonias de enterobacter son similares pero un poco más viscosas. Las colonias de *Klebsiella* son grandes, muy mucoides y tienen a confluir cuando la incubación se prolonga. Las salmonelas y las shiguelas producen colonias similares a la *E. coli*, pero no fermentan la lactosa. Tanto la *Shiguella* como los *Proteus* son anaerobios facultativos, sin embargo la primera crece mejor en condiciones aeróbicas. Algunas cepas de *E. coli* producen hemólisis en agar sangre (Brooks *et al.* 2002).

Los cultivos sobre medio diferenciales con colorantes especiales y carbohidratos como el azul de metileno, el MacConkey o medio de desoxicolato permiten una identificación presunta rápida de las bacterias entéricas (Brooks *et al.* 2002). El Agar MacConkey, se considera selectivo por que inhibe el desarrollo de bacterias grampositivas y diferencial porque separa de entre las bacterias que fermentan la lactosa de aquellas que no, produce cantidades generosas de ácido, lo que hace que el indicador, rojo neutro, vire hacia un color rosado intenso; las que no la fermentan, no experimentan ningún cambio y la apariencia de sus colonias es transparente o incoloro (UES, 2012).

Cuadro 1. Identificación rápida y presuntiva bacterias entéricas gramnegativas según crecimientos en placas.

<p>Lactosa fermentada con rapidez</p> <p><i>Escherichia coli</i>: brillo metálico en medios diferenciales; colonias móviles; colonias planas no viscosas</p> <p><i>Enterobacter aerogenes</i>: colonias elevadas, sin brillo metálico; a menudo móviles; proliferación más viscosa</p> <p><i>Enterobacter cloacae</i>: similar a <i>Enterobacter aerogenes</i></p> <p><i>Klebsiella pneumoniae</i>: multiplicación muy viscosa, mucoide; no móviles</p>
<p>Lactosa fermentada con lentitud</p> <p><i>Edwardsiella</i>, <i>Serratia</i>, <i>Citrobacter</i>, <i>Arizona</i>, <i>Providencia</i>, <i>Erwinia</i></p>
<p>Lactosa no fermentada</p> <p>Especies de <i>Shigella</i>: no móviles; no producción de gas a partir de dextrosa</p> <p>Especies de <i>Salmonella</i>: móviles; formación de ácido y por lo general gas a partir de dextrosa</p> <p>Especies de <i>Proteus</i>: "proliferación" en agar; urea rápidamente hidrolizada (olor a amoníaco)</p> <p>Especies de <i>Pseudomonas</i> (cap. 16): pigmentos solubles, azul verdoso y fluorescente; olor dulce</p>

Algunos ejemplos de las características de las colonias bacterianas en este medio son: colonias de *Escherichia coli*, fermenta lactosa (colonias rosado o rosada con bordes amarillentos), circulares, convexas, lisas con bordes bien definidos. Las colonias de *Proteus* o *Salmonella*: no fermentan la lactosa (colonias incoloras) (Brooks *et al.* 2002).

Las especies de *Proteus* se mueven activamente por toda la placa por medio de flagelos peritricos (flagelos que rodean la bacteria) y dan como resultado *swarming* sobre medio sólido, a menos que se inhiban mediante sustancias químicas (Brooks *et al.* 2002).

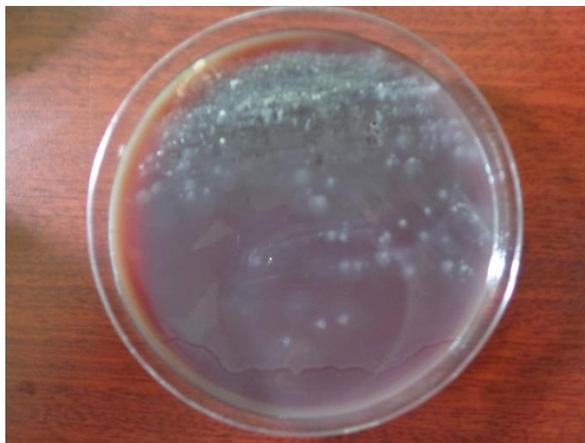


Figura 9. Efecto *swarming* del crecimiento de *Proteus spp.* en placa de agar sangre

Otro tipo de medio que se utiliza es el medio Agar Tres azúcares y hierro (TSI). Este es un medio diferencial y su utilidad es la identificación presuntiva de los géneros de algunas bacterias gramnegativas (UES, 2012).

2.4.3.1.2. Patogenia y patología

Las bacterias entéricas *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Citrobacter* y especies de *Serratia*, son parte de la flora intestinal normal de los humanos, pero son mucho menos comunes que la *E. coli*. Por lo general, las bacterias entéricas no causan enfermedades e incluso pueden contribuir a la función normal del intestino. Estas solo se convierten en patógenas cuando alcanzan los tejidos fuera de sus sitios normales en el intestino o en otros menos comunes (Brooks *et al.* 2002).

Los sitios más frecuentes de infección clínicamente importante son el aparato urinario, vías biliares y otros sitios en la cavidad abdominal, pero cualquier sitio anatómico puede afectarse. Algunas bacterias entéricas son patógenos oportunistas. Cuando la defensa de un huésped son inadecuadas pueden producir infecciones localizadas de importancia clínica; las bacterias a veces alcanzan el torrente sanguíneo y causan septicemia (Brooks *et al.* 2002).

La *E. coli* es causante de infecciones del aparato urinario, diarrea, meningitis y septicemia. Esta se presenta cuando las defensas normales del huésped son inadecuadas así como consecuencia de infección del aparato urinario (Brooks *et al.* 2002). Esta bacteria se clasifica

en diferentes serotipos según el esquema elaborado por Kauffmann, el cual se basa en los de antígenos somáticos O que son termolábiles y de origen polisacárido; diferenciando a *E. coli* con más de 170 serogrupos. Y el antígeno flagelar H que es termolábil y de naturaleza proteica, que distingue 56 serogrupos hasta ahora. También son importantes los antígenos K (capsulares) y F (fimbriales).

Las capas patógenas que causan enfermedad entérica, se agrupan en cinco categorías: a) enterohemorrágica (ECEH), b) enterotoxígena (ECET), c) enteroinvasora (ECEI), d) enteropatógena (ECEP), e) enteroagregativa (ECEA) y f) con adherencia difusa; estas últimas dos no están bien definidas. Estas categorías difieren en su patogenia y propiedades de virulencia, perteneciendo a un grupo distinto de serotipos O:H. (Acha y Szyfres, 2001).

Desde el punto de vista zoonótico, la categoría más importante de *E. coli* es la enterohemorrágica, siendo también ésta la más severa. Esta presenta una característica importante, es precisamente que segrega toxinas similares a *Shigella* (Acha y Szyfres, 2001). Haciendo a estas dos bacterias de interés en salud pública por la zoonosis que pueden causar. La *Shigella* en particular causa disentería bacilar (Brooks *et al.* 2002).

La patogenia de las enfermedades causadas por *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Citrobacter*, *Serratia*; son similares a las causadas por la *E. coli*. Las especies de *Proteus* producen ureasa y por consiguiente hidrolizan con rapidez la urea con liberación de amonio. Así, en las infecciones del aparato urinario la orina se vuelve alcalina, lo cual promueve la formación de cálculos y es casi imposible acidificar la orina. La rápida motilidad de las especies de este género puede contribuir a su capacidad para invadir el aparato urinario (Brooks *et al.* 2002).

El *P. mirabilis* causa infecciones en el aparato urinario y en ocasiones otras infecciones. El *P. vulgaris* y la *Morganella morganii* son importantes patógenos nosocomiales. (Brooks *et al.* 2002).

La mayoría de bacterias identificadas a partir de infecciones en serpientes en cautiverio son microorganismos aerobios gramnegativos, entre los que están la *Pseudomona*, *Aeromona*, *Klebsiella*, *Escherichia coli* y *Salmonella*. Los ejemplos de bacterias anaerobias son *Clostridium* y *Bacteroides*. La mayoría de estos como se conoce, son oportunistas y pueden causar sepsis, esta tiene lugar por la invasión hematógena a partir del tegumento o los

aparatos respiratorio, digestivo o urinario. La presencia de petequias o equimosis es fuertemente indicativa de septicemia (Meredith y Redrobe 2012).

Proteus spp, *Pseudomona spp* y *Aeromonas spp*, producen trastornos en las escamas de serpientes, sobre todo en las ventrales (necrosis dérmica ventral, dermatitis vesicular enfermedad de las ampollas). Estos géneros y *Morganella* están también relacionados con la estomatitis en serpientes. Mientras que en la celulitis intermandibular destacan las *Pseudomona* y *Aeromona* (Jepson, 2011).

2.4.3.1.3. Pruebas diagnósticas de laboratorio

Los cultivos utilizados para su estudio se realizan en medios diferenciales, como los descritos anteriormente, ya que con ellos casi siempre es posible una identificación preliminar rápida de las bacterias. Las enterobacteriáceas morfológicamente se parecen entre sí. La presencia de capsulas grandes sugieren *Klebsiella* (Brooks *et al.* 2002).

Para la diferenciación bioquímica pueden emplearse los patrones de fermentación de los carbohidratos y la actividad de los aminoácidos y otras enzimas. Algunas pruebas, por ejemplo producción de Indol a partir de triptófano, se emplea con regularidad en sistemas de identificación rápida, en tanto que otras, como la reacción de Vogues-Proskauer (acetilmetilcarbinol a partir de glucosa) se utilizan con menor frecuencia (Brooks *et al.* 2002).

Por lo general la *E. coli* ocasiona reacciones positivas para el Indol y produce gas a partir de la glucosa. La mayor parte de las especies de *Enterobacter* dan resultado positivo a las pruebas de motilidad, citrato y ornitina descarboxilasa y producen gas a partir de la glucosa. Por otra parte, las especies de *Proteus* son positivos a urea, aunque sus características de crecimiento y olor amoniacal las destaca claramente. (Brooks *et al.* 2002).

Las shiguelas no poseen motilidad y en general no fermentan la lactosa, pero si otros carbohidratos, todas fermentan glucosa con excepción de alguna *Shigella sonnei*, produciendo ácido aunque no gas. Las cuatro especies de Shiguella están muy relacionadas con la *E. coli*. Muchas comparten antígenos comunes entre sí y con otras bacterias entéricas por ejemplo con *Hafnia Alvei* (Brooks *et al.* 2002).

2.4.3.2. Estafilococos

Los estafilococos son células esféricas grampositivas, generalmente dispuestas en racimos irregulares parecidos a racimos de uvas; crecen con rapidez sobre muchos tipos de medios y son metabólicamente activos, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que varían desde el color blanco hasta el amarillo intenso. Algunos son miembros de la flora normal de la piel y mucosas de los humanos; otras causan supuración, formación de abscesos, varias infecciones piógenas e incluso septicemia mortal. Los patógenos casi siempre causan hemólisis, coagulación de plasma y producen varias enzimas y toxinas extracelulares.

El género *Staphylococcus* contiene al menos 30 especies. Las tres de importancia clínica son *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*. El primero es coagulasa-positivo (CP), que lo diferencia de otras especies. El *Staphylococcus aureus*, es un patógeno importante para los humanos. Casi toda persona padece algún tipo de infección por esta bacteria durante su vida, que varía en gravedad desde intoxicación alimentaria o infecciones cutáneas menores hasta infecciones graves potencialmente mortales. Los estafilococos coagulasa-negativos (ECN) son normales en la flora humana y a veces causan infección, casi siempre asociada con dispositivos y aparatos implantados.

Alrededor del 75% de infecciones causadas por estafilococos coagulasa-negativos se deben al *Staphylococcus epidermidis*. (Brooks *et al.* 2002).

2.4.3.2.1. Características del crecimiento

Los estafilococos crecen con facilidad sobre casi todos los medios bacteriológicos en condiciones aerobias o microaerófilas (condiciones de baja y estricta concentración de oxígeno). Crecen con mayor rapidez a 37 °C, pero el pigmento se forma mejor a temperaturas de 20 a 25 °C. Sobre medios sólidos las colonias son redondas, lisas, prominentes y brillantes. En el aislamiento primario las colonias de *S. epidermidis* en general son de color gris o blanco; muchas colonias desarrollan pigmentos sólo después de incubación prolongada, el *S. aureus* comúnmente forma colonias amarillas, gris o dorado intenso (Brooks *et al.* 2002).



Figura 10. Crecimiento de colonias de *Staphylococcus spp.* en placa de agar sangre.

2.4.3.2.2. Patogenia y patología

Los estafilococos En particular el *S. epidermidis*, son miembros de la flora normal de la piel humana y de los aparatos respiratorio y gastrointestinal; estos regularmente se encuentran en las vestimentas y ropa de cama, así como en otros fómites del entorno.

El *S. aureus* patógeno invasor produce coagulasa y muestra tendencia a generar un pigmento amarillo y a causar hemólisis. Los estafilococos no patógenos y no invasores como el *S. epidermidis* son coagulasa negativo y tienden a no ser hemolíticos. Estos microorganismos pocas veces producen supuración pero pueden infectar o causar enfermedad en personas inmunodeficientes. Por lo general el *S. saprophyticus* es no pigmentado, resiste a la novobiocina y no es hemolítico; causa infecciones del aparato urinario en mujeres jóvenes (Brooks *et al.* 2002).

En humanos, el prototipo de una lesión estafilocócica es el forúnculo y otros abscesos localizados. Los grupos de *S. aureus* establecidos en un folículo piloso conducen a necrosis tisular (factor dermonecrosante). La supuración focal (absceso) es característica de la infección por estafilococos. Este también puede causar neumonía, meningitis, empiema, endocarditis o septicemia con supuración en cualquier órgano. Los de menor invasividad participan en muchas infecciones cutáneas. (Brooks *et al.* 2002).

En serpientes ocasionalmente se pueden identificar bacterias grampositivas como estafilococos coagulasa positiva y negativo (Meredith y Redrobe 2012). En periodos de inmunosupresión causan problemas de tegumento y dermatitis vesicular necrotizante.

Pese a que los estafilococos coagulasa-positivos se consideran patogénicos para los humanos, los CP de los perros (*Staphylococcus intermedius*) y delfines (*Staphylococcus delphini*) muy pocas veces causan enfermedades en humanos (Brooks *et al.* 2002).

2.4.3.2.3. Pruebas diagnósticas de laboratorio

En los frotis teñidos se observan estafilococos típicos, no es posible distinguir los saprofitos de los patógenos (Brooks *et al.* 2002). Sin embargo con pruebas como la catalasa y coagulasa se pueden diferenciar especies.

Las muestras sembradas a 37 °C en placas de agar sangre producen colonias típicas en 18 horas, pero no pueden presentar hemólisis o producción de pigmentos sino hasta varios días después y ambos procesos son óptimos a temperatura ambiente (Brooks *et al.* 2002).

Los estafilococos producen catalasa, que convierte el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno. La prueba de la catalasa puede diferenciar los estafilococos, que son positivos, de los estreptococos, que son negativos. Para realizar esta prueba se coloca una gota de solución de peróxido de hidrogeno sobre una muestra de bacterias en crecimiento intenso sobre agar inclinado y se observa la aparición de burbujas (Brooks *et al.* 2002).

En la prueba de coagulasa, el plasma citratado de conejo (o humano), diluido 1:5 se mezcla con un volumen igual de caldo de cultivo o colonias en crecimiento sobre agar sangre y se incuba a 37 °C. Se incluye como control un tubo de mezclado con caldo estéril. Si se forma coagulo en 1 a 4 horas la prueba es positiva (Brooks *et al.* 2002).

Otras pruebas como la de susceptibilidad por microdilución en caldo o por difusión en disco a los estafilococos aislados de infecciones de importancia clínica en humanos son realizadas para establecer tratamientos. Así como las pruebas serológicas y de tipificación en infecciones profundas y prolongadas. Estas pruebas tienen poco valor practico (Brooks *et al.* 2002).

3. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años la popularidad de los reptiles, incluyendo a las serpientes, ha producido un incremento considerable, en el número de ejemplares conservados en cautiverio, como animales de compañía no convencionales. Este tipo de conducta, genera una serie de problemas para la salud pública, que en nuestro país no se tiene en cuenta. A pesar de ello, aumenta la frecuencia de especies de las familias Boidae y Colubridae, que son llevadas a consultas generales en clínicas veterinarias (Meredith y Redrobe 2012).

Generalmente se discuten las zoonosis, transmitidas por animales de producción pecuaria y mascotas, como perros y gatos; pero el desconocimiento es muy amplio cuando se trata de animales silvestres, en especial de reptiles y anfibios (Barragán 2002). Corresponde al médico veterinario, conocer e informar de las enfermedades zoonóticas por contacto, y los riesgos de mantener serpientes venenosas y no venenosas (Boidae y Colubridae) en cautiverio. Además de brindar la información necesaria, sobre los cuidados y manejos adecuados, para prevenir cualquier tipo de enfermedades en las serpientes.

Dentro de las bacterias que habitan como flora normal en réptiles, destaca la *Salmonella spp*, ubicada en el tracto gastrointestinal, que puede producir patologías gastroéntéricas por el resultado del intercambio entre los cuidadores. Otras bacterias identificadas son las *Aeromonas*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Clostridium* y *Streptococcus* (Barragán 2002); que son capaces de producir zoonosis por contacto. Siendo más susceptibles de adquirirlas personas, con el sistema inmunológico comprometido: niños y ancianos (Folch 2004). Presentando también un riesgo ocupacional para veterinarios, biólogos, herpetólogos, auxiliares de serpentarios y personas en general.

La flora microbiana, que poseen los animales poiquiloterms como las serpientes, no sólo es mayor, sino que también diferente, a la que se encuentra en animales homeoterms como los mamíferos (Carrquiriborde 2010); por ello los factores ambientales o climatológicos, pueden causar inmunosupresión al animal. Y Un ambiente seco produce disecdisis (muda anormal). y así como erosiones. Si el terrario no cuenta con una fuente de calor adecuada, provoca hipotermia, afectando las enzimas digestivas y alterando el sistema inmune.

Investigaciones realizadas en la cavidad oral de las serpientes, para la identificación de bacterias, se han limitado a las especies venenosas (por las bacterias que inocula en el momento de la mordedura); sin considerar que las no venenosas también poseen bacterias, y la principal diferencia, es el potente veneno del cual carecen algunos colúbridos, boas y pitones (Blandón Marín 2009).

Es la primera vez, que en El Salvador se investiga la flora bacteriana de la cavidad oral de las serpientes no venenosas, en cautiverio. Su principal importancia surge debido a que la mayoría de estos microorganismos, son patógenas oportunistas, que forman parte de la flora orgánica normal; pudiendo causarles enfermedades en periodos de inmunosupresión (Meredith y Redrobe 2012); identificando estos microorganismos, se tiene una referencia más certera para aplicar tratamientos específicos, mejorando el estado de salud del animal en menor tiempo, y se previene a la vez, que los fármacos de amplio espectro, sean inefectivos y se genere resistencia debido a tratamientos inadecuados.

Por lo tanto, la importancia de la identificación de la flora bacteriana oral, de serpientes no venenosas, está relacionada principalmente con la prevención de enfermedades en las serpientes y seres humanos. Al realizar revisiones veterinarias periódicas a las serpientes y chequeos de laboratorio, se puede determinar la presencia de estas bacterias, previniendo las zoonosis y cualquier otro tipo de afección, que se presente en el ejemplar como: parasitosis, anemias y mal formaciones óseas entre otras.

Asimismo el Parque Zoológico Nacional de El Salvador, se ve favorecido, adquiriendo nuevos conocimientos por medio de ésta investigación; pues al no contar con un departamento de investigación interna, se promueve mejorar en lo posible, la salud y calidad de vida de los ejemplares en estudio. Además de prevenirles zoonosis a la encargada del herpetario y los colaboradores que se encuentren en estrecho contacto con las serpientes.

4. HIPÓTESIS CIENTIFICA

Al realizar cultivos bacterianos de la cavidad oral en serpientes de la familia Boidae y Colubridae del Herpetario del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se identificarán bacterias aerobias y anaerobias que pueden producir zoonosis.

5. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

5.1. Objetivo General

Determinar la presencia de flora bacteriana en la cavidad oral, a partir de hisopados en serpientes en cautiverio de las familias Boidae y Colubridae en el Parque Zoológico Nacional de El Salvador.

5.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar géneros y especies de las bacterias presentes en cavidad oral.
- Clasificar las bacterias de carácter zoonótico.
- Comparar géneros de bacterias identificadas entre las familias Boidae y Colubridae.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Materiales

Materiales utilizados para la toma de muestra

- Alcohol
- Algodón
- Bolsas para basura
- Cajas de transporte para serpientes
- Cámara fotográfica y de video
- Fósforos
- Guantes
- Hielera
- Hisopos estériles
- Libreta de anotaciones
- Mascarillas
- Mechero/soplete
- Mesa
- Papel de empaque
- Papel toalla.
- Pinzas
- Tiras reactivas para pH
- Tirro

Materiales utilizados en el procesamiento de muestras

- Aceite de inmersión
- Agar base MacConkey #3 500 gr.
- Agar base sangre 500 gr.
- Agua potable
- Asas de nicromo
- Bandeja para coloración de Gram
- Bases para pruebas bioquímicas
- Beaker 50 ml.

- Cajas Petri desechables de 100 x 15 mm.
- Espátula
- Gabachas
- Gel refrigerante
- Gradillas
- Hidróxido de potasio
- Jarra de Gas Pack
- Kit de tinción de Gram (Cristal violeta, lugol, alcohol acetona, safranina)
- Marcadores indelebles
- Peróxido de hidrogeno
- Portaobjetos
- Reactivo de Erlich
- Reactivo de Kovacks
- Sangre 100 ml.
- Sobres de GasPack
- Termómetro ambiental
- Tubos de ensayo 13 x 100
- Tubos de ensayo 16 x 25

Equipo utilizado en el procesamiento de muestras:

- Autoclave
- Balanza analítica
- Hot plate
- Incubadora
- Mechero
- Microscopio
- Refrigeradora
- Tambo de gas

6.2. Metodología de campo

6.2.1. Ubicación

La investigación se llevó a cabo en el Herpetario del Parque Zoológico Nacional de El Salvador en el Barrio San Jacinto, que se encuentra en final calle Modelo, departamento de San Salvador, El Salvador (Figura A-11), cuenta con 8.5 manzanas de extensión, y una ubicación satelital de 650 metros sobre el nivel del mar (msnm), 13° 41.038´ N y 89° 11.767´ O. El procesamiento de las muestras se realizó en un Laboratorio clínico del sector privado, ubicado sobre la 27 avenida norte y 23 calle poniente, San Salvador.

6.2.2. Duración de la investigación

El desarrollo de la investigación tuvo una duración de 6 meses, comprendiendo el periodo entre el 31 de mayo al 29 de noviembre del 2013.

6.3. Descripción del estudio

En la fase de campo se muestrearon un total de 60 serpientes, 14 pertenecientes a la familia Colubridae y 46 a la familia Boidae (Cuadro A-1). A las cuales se les realizó tres hisopados de la mucosa oral, a más de 15 ejemplares por día, con la ayuda del personal encargado del Parque. La toma de muestra y el procedimiento de laboratorio fue llevado a cabo según una marcha de laboratorio estructurada para la investigación (Anexo A-1).

El primer hisopo se efectuó para frotis directo, se preparó rozando la muestra en un portaobjeto, se dejó secar a temperatura ambiente, flameando a posterior la base para fijar la muestra. El segundo, utilizado para cultivo de bacterias aerobias, se inoculó y estrió en una placa de agar sangre, realizando este mismo procedimiento en una placa de agar MacConkey. El tercero, para cultivar bacterias anaerobias, se profundizó un poco más al momento de tomar la muestra, esta vez en una placa de agar sangre para ser colocada en una Jarra de Gas Pack en la cual se depositó un sobre para crear ambiente anaeróbico. Para finalizar se colocó una tira reactiva en la cavidad oral impregnándola con saliva para la medición de pH.

Las muestras obtenidas fueron procesadas en el laboratorio, realizando tinciones de Gram a los frotis directos. Se incubó y dio lectura macroscópica a los cultivos bacterianos una vez

transcurrido el tiempo adecuado. Así como la ejecución de pruebas bioquímicas para determinar los géneros y especies de las bacterias.



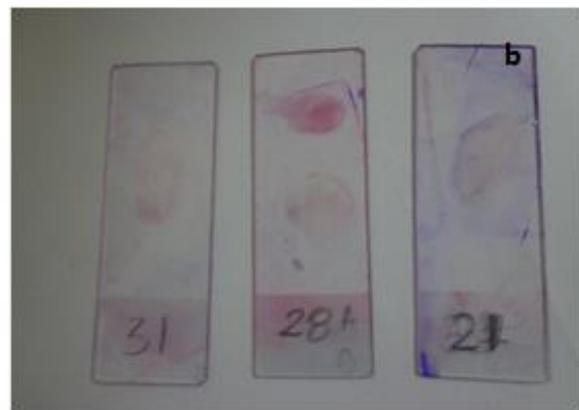
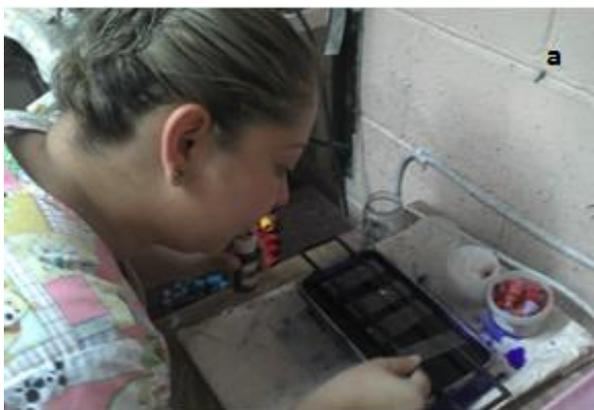
Figura 11. Toma de muestra y frotis directo: a) Abertura de cavidad oral; b, c, d, e) toma de muestra; f) laminilla para frotis directo.



Figura 12. Toma de pH en saliva de serpientes: a) Tiras impregnadas con saliva de serpientes; b) Lectura de pH.

6.4. Metodología de laboratorio

Una vez tomadas las muestras fueron transportadas al laboratorio para ser procesadas. Las cajas con las siembras se incubaron proporcionándoles las condiciones requeridas para el crecimiento bacteriano y los frotis directos teñidos al Gram, se visualizaron en el microscopio llegando hasta el objetivo de inmersión con el fin de observar de manera general la microscopia de posibles bacterias a determinar; posteriormente se anotan los resultados obtenidos. Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a la lectura de las colonias más representativas: determinando tamaño, bordes, elevaciones, cromogénesis (Pelczar 1982) entre otras características que nos aportaron datos sobre que bacteria había crecido.



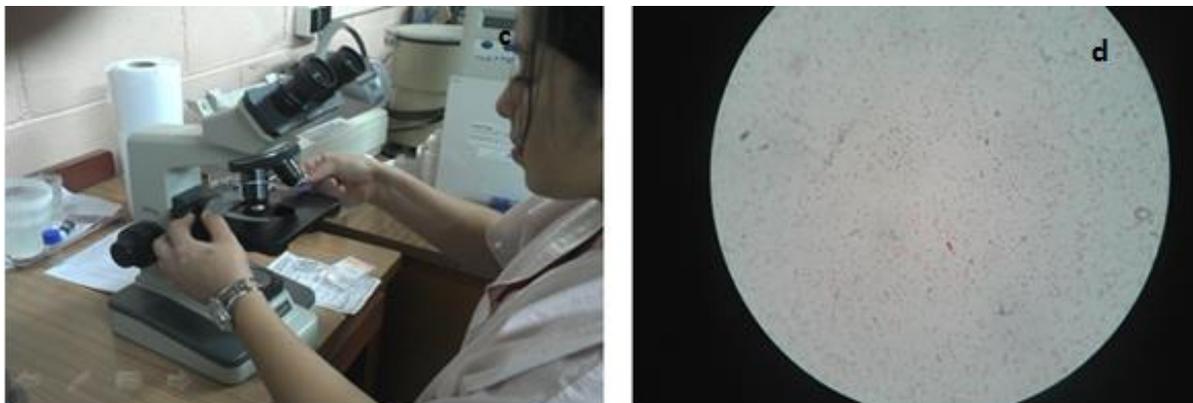


Figura 13. Frotis directo y microscopia bacteriana: a,b) tinción al gram y observación bajo el objetivo de inmersión; c,d) determinación de microscopia bacteriana.



Figura 14. Lectura de bacterias representativas o macroscopia: a,b) determinación de tamaño, bordes, elevaciones y otras características macroscópicas.

Para las bacterias aerobias a partir de las colonias más representativas se tomó muestras para tinciones de Gram y según los resultados, grampositivas o gramnegativas, se determinaron las pruebas a realizar. Para aquellas con resultado grampositivo, se realizó las pruebas de catalasa y coagulasa, como prueba adicional se utilizó el Taxo A o Bacitracina para verificar los resultados (UES 2012).

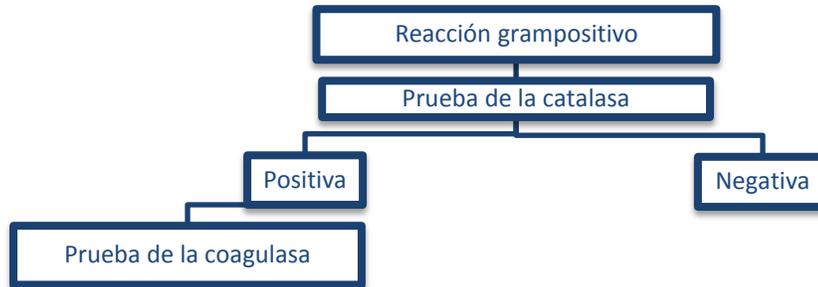


Figura 15. Pruebas realizadas para resultados de bacterias grampositivas

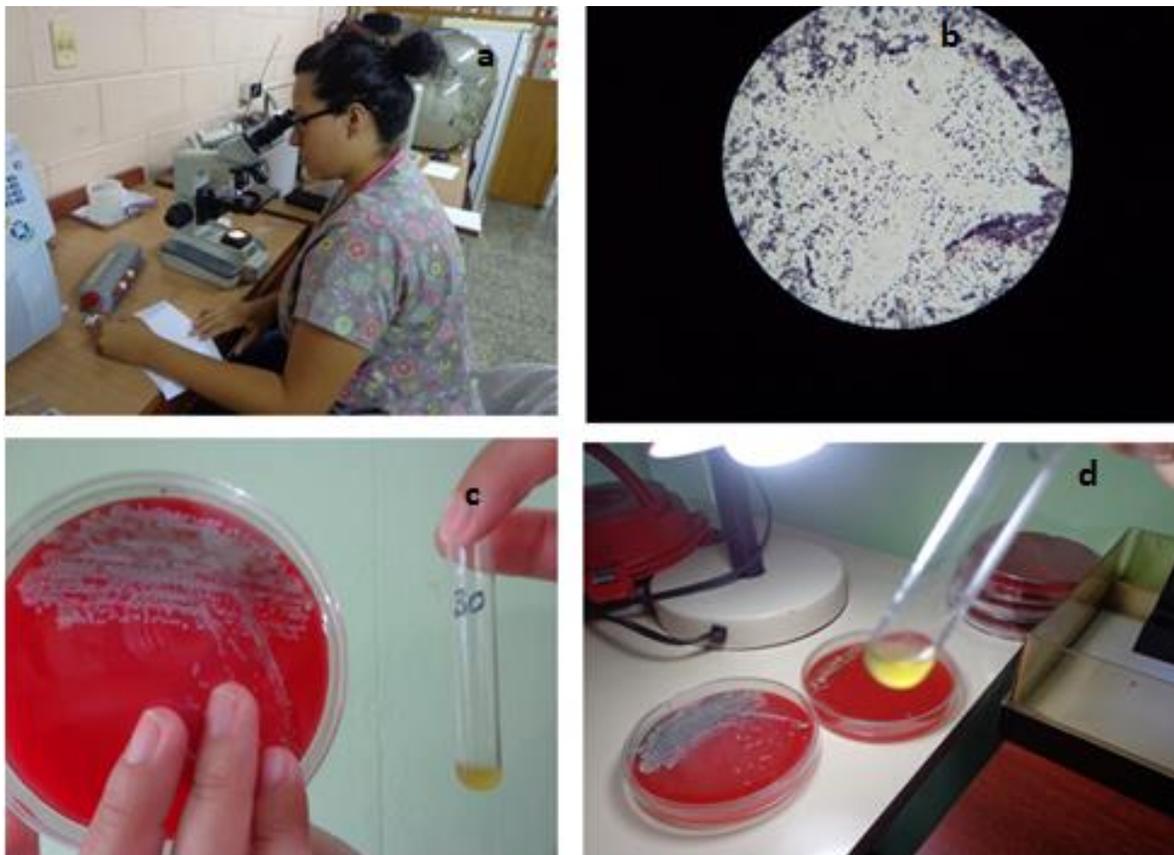


Figura 16. Pruebas para bacterias Gram positivas: a, b) muestras Gram positivas; c, d) pruebas de la catalasa y coagulasa.

En aquellas en que la tinción del frotis dio resultado Gram Negativo, se realizaron las pruebas bioquímicas de Tres azúcares y hierro (TSI), las pruebas de Indol, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer, citrato (Pruebas IMVic), ornitina, urea y movilidad. Las reacciones que

presentaron fueron confrontadas con tablas para identificación de Enterobacterias (Anexo F-1), caracterizando así las bacterias (Gini 1995).

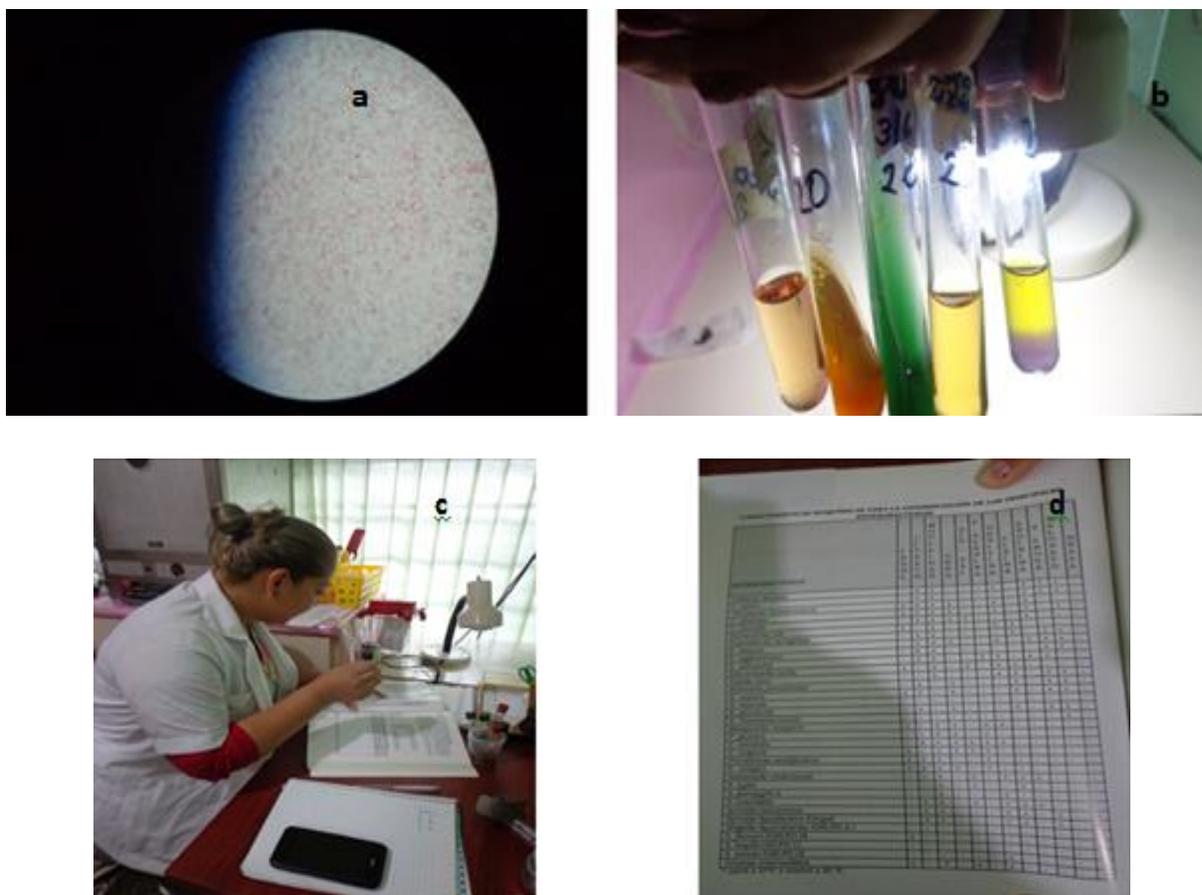


Figura 17. Pruebas bioquímicas y determinación de bacterias: a) bacterias Gram negativas; b) diferentes pruebas bioquímicas realizadas; c, d) confrontación de los resultados con tablas para determinar enterobacterias.

Para las bacterias anaerobias sembradas en agar sangre a partir de la identificación macroscópica y tinciones de gram se realizaron pruebas bioquímicas para determinación de Enterobacterias.

6.5. Metodología estadística

El método estadístico seleccionado para la investigación es el análisis descriptivo: Univariado, Bivariado en el que se desarrolló un ensayo Multivariable empleando regresión

logística. Con ello se buscó presentar las características principales de los resultados de toda la población en estudio (Bonilla 1995).

Las variables que se tomaron en cuenta fueron seleccionadas en base a las serpientes, las bacterias y detalles de su entorno. Siendo estas: el nombre científico de las serpientes, el sexo, peso en onzas, tipo de dentadura, alimentación y pH de la saliva, El género y nombre científico de las bacterias, si son o no zoonóticas, las bacterias anaeróbicas y aeróbicas aisladas, la reacción al gram y la morfología microscópica de las bacterias, la cantidad de serpientes por terrario, la temperatura, la iluminación y los componentes de cada recinto.

Para el procesamiento de datos se utilizó el programa IBM SPSS Statistics 21, diseñado para una amplia gama de procedimientos estadísticos para análisis e informes básicos, incluyendo recuentos, tablas de contingencia y estadísticas descriptivas. En este se introducen los datos bajo un formato del tipo de hoja de cálculo, a partir de esa matriz de datos se realizaron cuadros de doble entrada para detallar los resultados. Los cuadros se dividen en un análisis univariado que describió el comportamiento individual de las variables, validando la cantidad de población utilizada en el análisis que en todos los casos son el 100% de las serpientes (60 ejemplares), así como un análisis bivariado que destacó como una variable (variable independiente) afectaba el comportamiento de otra variable (variable dependiente), estos datos fueron resumidos en tablas de doble entrada. Finalizando con análisis Multivariable el cual se utilizó para destacar las interacciones de las variables dependientes e independientes que con los 2 análisis anteriores no se podían representar (Ñanculef, 2009). La relación entre las variables se demostró de manera gráfica.

7. RESULTADOS

7.1. Análisis Univariado y Bivariado.

Cuadro 2. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el de la bacteria determinada.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE*NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA												
Serpientes	Bacterias	Negativo(*)	<i>Enterobacter</i> <i>sp.</i>	<i>Escherichia</i> <i>coli</i>	<i>Hafnia</i> <i>alvei</i>	<i>Proteus</i> <i>sp.</i>	<i>Proteus</i> <i>mirabilis</i>	<i>Proteus</i> <i>vulgaris</i>	<i>Shigella</i> <i>sonnei</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>albus coagulasa (-)</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>sp.</i>	N (%)
	<i>Lampropeltis</i> <i>triangulum</i>		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Trimorphodon</i> <i>biscutatus</i>		1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Leptodeira</i> <i>annulata</i>		0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Pantheropis</i> <i>guttatus</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1 (1.7%)
<i>Senticolis</i> <i>triaspis</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis</i> <i>getula</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis</i> <i>mentovarius</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Conophis</i> <i>lineatus</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Mastogodyras</i> <i>dorsalis</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Leptophis</i> <i>mexicanus</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python</i> <i>brongersmai</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Morelia</i> <i>spilota</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python</i> <i>regius</i>		1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Boa</i> <i>constrictor</i>		16	0	1	2	3	11	3	1	0	0	37 (61.7%)
<i>Spilotes</i> <i>pullatus</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1 (1.7%)
<i>Python</i> <i>reticulatus</i>		0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1 (1.7%)
<i>Python</i> <i>molurus</i>		0	2	0	0	1	0	0	0	0	1	3 (5.0%)
<i>Eunectes</i> <i>notaeus</i>		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1 (1.7%)
Total		28	2	5	3	4	11	4	1	1	1	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

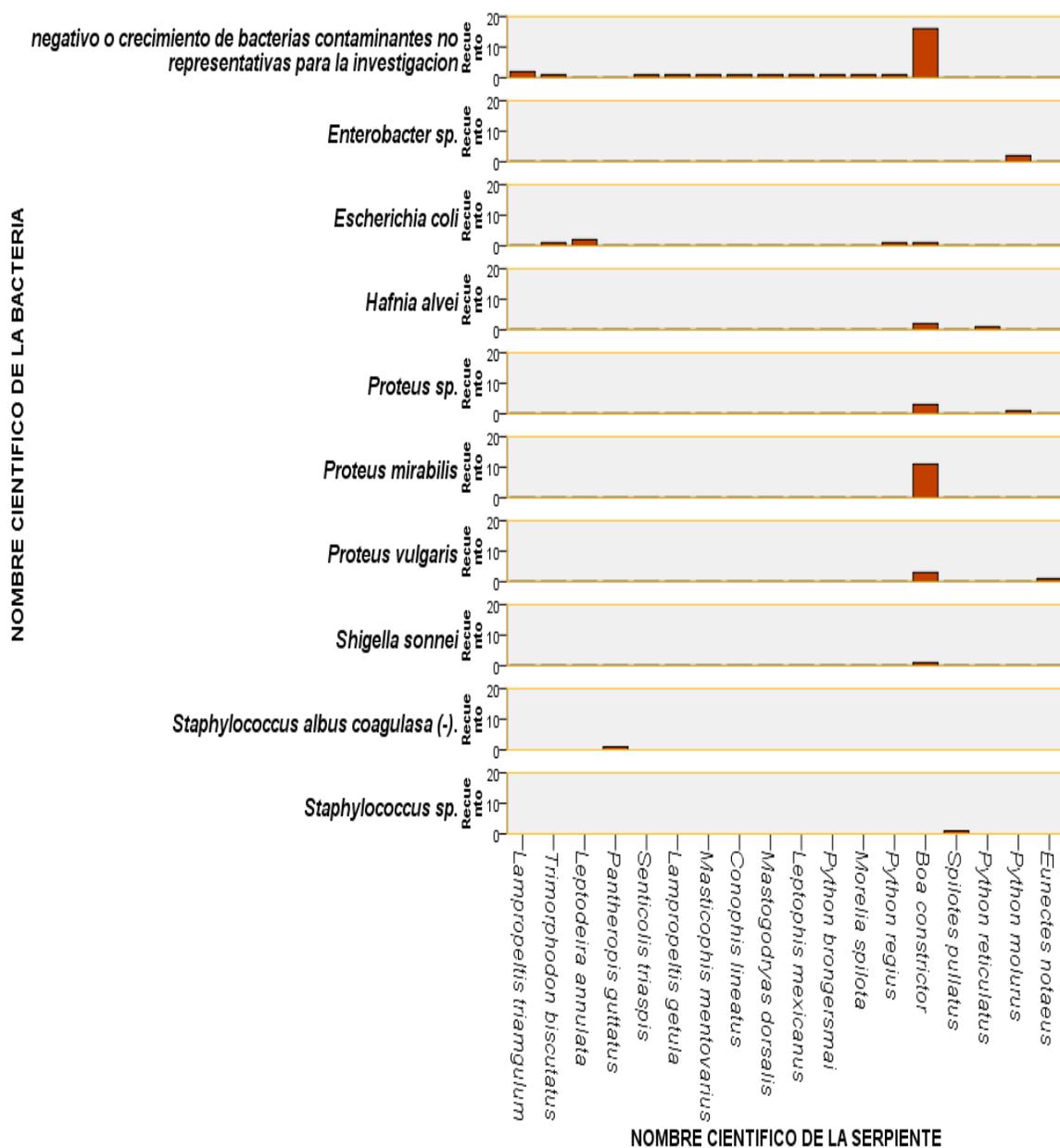


Figura 18. Gráfico de análisis descriptivo de doble entrada relacionando el nombre científico de la serpiente con el de la bacteria determinada.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron las siguientes bacterias: 28 resultados negativos, 2 *Enterobacter sp.*(*Python molurus* o pitón indio),5 *Escherichia coli* (*Trimorphodon biscutatus* o lira (1)),(*Leptodeira annulata* o ranera(2)), (*Python regius* o pitón real (1)), (*Boa constrictor* o masacuata (1)), 3 *Hafnia alvei*

(*Boa constrictor* o boa colombiana (2)), (*Phyton reticulatus* o pitón reticulada(1)), 4 *Proteus* sp. (*Boa constrictor* o boa colombiana y masacuata (3)), (*Phyton molurus* o pitón indio (1)), 11 *Proteus mirabilis* (*Boa constrictor* o masacuatas y *Boa constrictor* o colombianas), 4 *Proteus vulgaris* (*Boa constrictor* o boa nicaragüense (3) *Eunectes notaeus* o anaconda amarilla (1)), 1 *Shigella sonnei* (*Boa constrictor* o masacuata), 1 *Staphylococcus albus coagulasa* (-) (*Pantheropsis guttata* o serpiente de maíz) y 1 *Staphylococcus* sp. (*Spilotes pullatus* o Chichicúa).

Cuadro 3. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de las bacterias clasificándolas como zoonóticas o no zoonóticas.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA*CLASIFICACION DE LAS BACTERIAS COMO ZOOTICAS O NO ZOOTICAS				
BACTERIAS \ ZONOSIS	Negativo(*)	Zoonóticas	No Zoonóticas	N (%)
Negativo(*)	28	0	0	28 (46.7%)
<i>Enterobacter</i> sp.	0	0	2	2 (3.3%)
<i>Escherichia coli</i>	0	5	0	5 (8.3%)
<i>Hafnia alvei</i>	0	0	3	3 (5.0%)
<i>Proteus</i> sp.	0	0	4	4 (6.7%)
<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	11	11 (18.3%)
<i>Proteus vulgaris</i>	0	0	4	4 (6.7%)
<i>Shigella sonnei</i>	0	1	0	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus albus coagulasa</i> (-)	0	0	1	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus</i> sp.	0	0	1	1 (1.7%)
Total	28	6	26	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

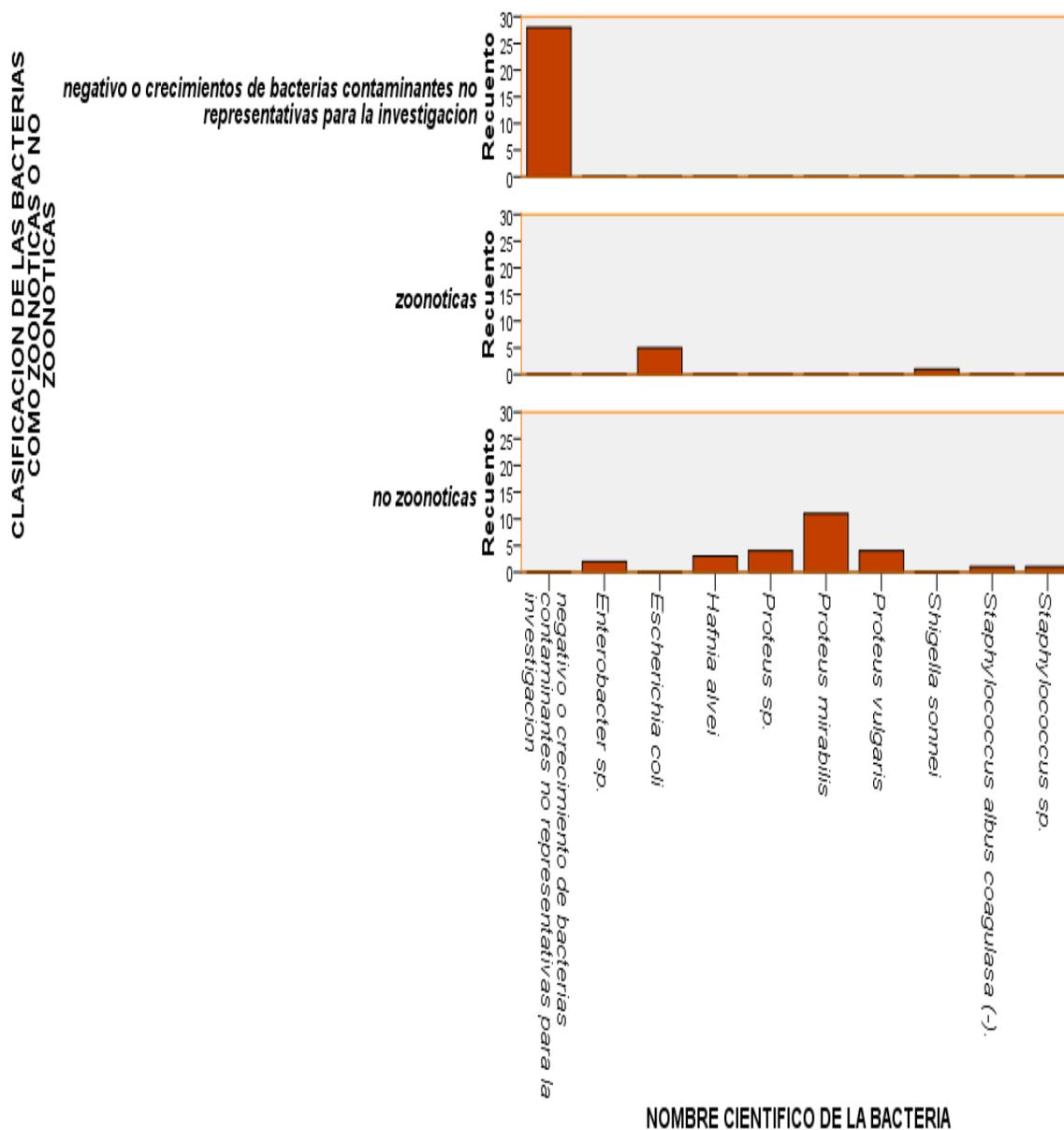


Figura 19. Grafico del análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de las bacterias clasificándolas como zoonóticas o no zoonóticas

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 28 resultados negativos, 6 bacterias de clasificación zoonótica (*Escherichia coli* (5), *Shigella sonnei* (1)) y 26 bacterias de clasificación no zoonótica (*Enterobacter sp* (2), *Hafnia alvei* (3),

Proteus sp. (4), *Proteus mirabilis* (11), *Proteus vulgaris* (4), *Staphylococcus sp.* (1), Y *Staphylococcus coagulasa* (-)(1)).

Cuadro 4. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de las serpientes con los géneros de las bacterias según clasificación taxonómica.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE*GENERO DE LA BACTERIA SEGUN CLASIFICACION TAXONOMICA								
Generos B. Serpientes	Negativo(*)	<i>Enterobacter</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Hafnia</i>	<i>Proteus</i>	<i>Shigella</i>	<i>Staphylococcus</i>	N (%)
<i>Lampropeltis triamgulum</i>	2	0	0	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Trimorphodon biscutatus</i>	1	0	1	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Leptodeira annulata</i>	0	0	2	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Pantheropis guttatus</i>	0	0	0	0	0	0	1	1 (1.7%)
<i>Senticolis triaspis</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis getula</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis mentovarius</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Conophis lineatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Mastogodryas dorsalis</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Leptophis mexicanus</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python brongersmai</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Morelia spilota</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python regius</i>	1	0	1	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Boa constrictor</i>	16	0	1	2	17	1	0	37 (61.7%)
<i>Spilotes pullatus</i>	0	0	0	0	0	0	1	1 (1.7%)
<i>Python reticulatus</i>	0	0	0	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python molurus</i>	0	2	0	0	1	0	0	3 (5.0%)
<i>Eunectes notaeus</i>	0	0	0	0	1	0	0	1 (1.7%)
Total	28	2	5	3	19	1	2	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

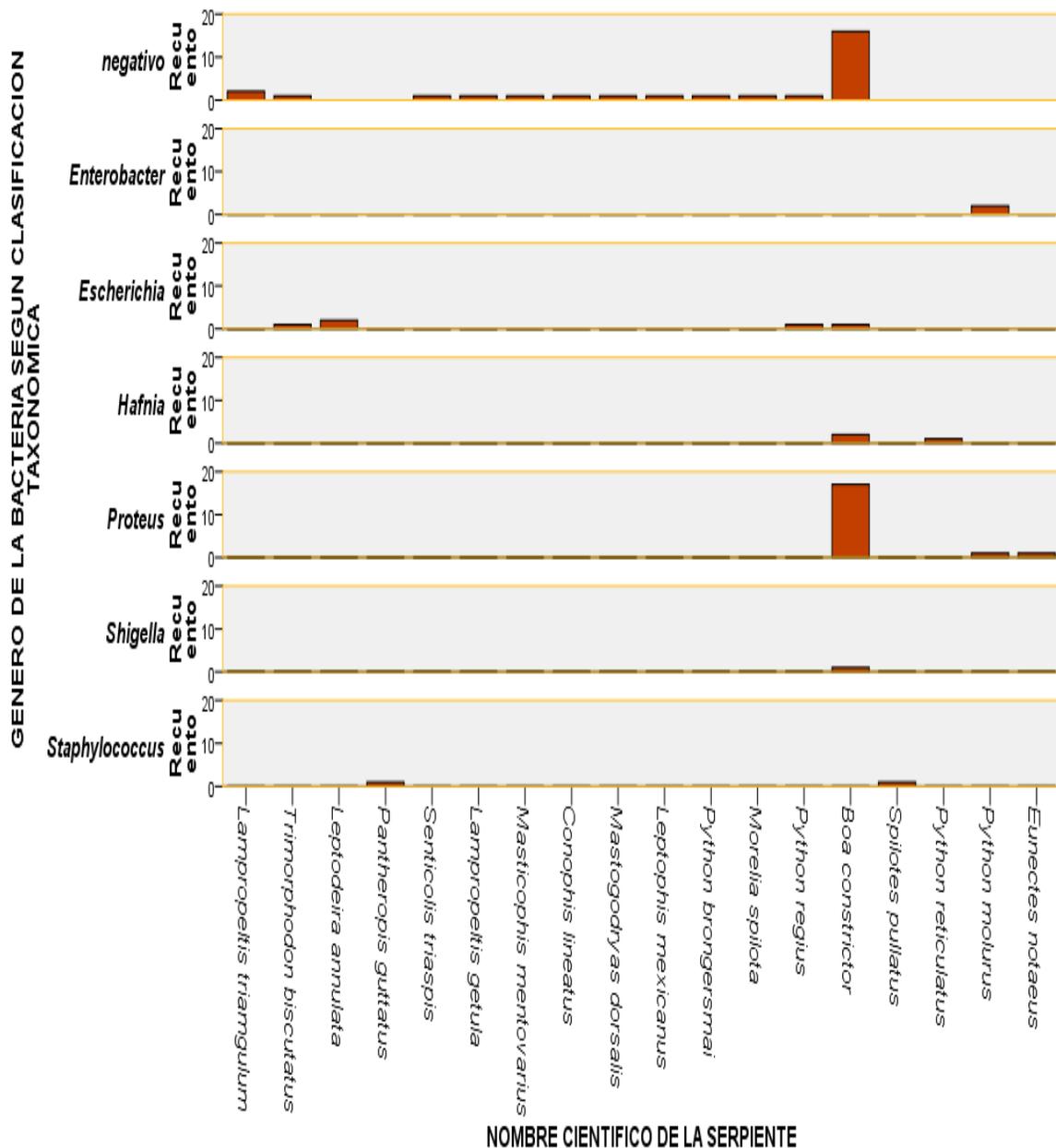


Figura 20. Gráfico del análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de las serpientes relacionándolas con los géneros de las bacterias según clasificación taxonómica.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron los

siguientes géneros de bacterias: 28 resultados negativos, 2 *Enterobacter*, 5 *Escherichia*, 19 *Proteus*, 3 *Hafnia*, 1 *Shigella* y 2 *Staphylococcus*.

Cuadro 5. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el sexo determinado por cánulas.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE* DETERMINACION DE SEXO POR CANULAS			
Serpientes \ Sexo	<i>Macho</i>	<i>Hembra</i>	N (%)
<i>Lampropeltis triamgulum</i>	1	1	2 (3.3%)
<i>Trimorphodon biscutatus</i>	1	1	2 (3.3%)
<i>Leptodeira annulata</i>	1	1	2 (3.3%)
<i>Pantheropsis guttatus</i>	0	1	1 (1.7%)
<i>Senticolis triaspis</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis getula</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis mentovarius</i>	0	1	1 (1.7%)
<i>Conophis lineatus</i>	0	1	1 (1.7%)
<i>Mastogodryas dorsalis</i>	0	1	1 (1.7%)
<i>Leptophis mexicanus</i>	0	1	1 (1.7%)
<i>Python brongersmai</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Morelia spilota</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Python regius</i>	0	2	2 (3.3%)
<i>Boa constrictor</i>	5	32	37 (61.7%)
<i>Spilotes pullatus</i>	0	1	1 (1.7%)
<i>Python reticulatus</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Python molurus</i>	3	0	3 (5.0%)
<i>Eunectes notaeus</i>	0	1	1 (1.7%)
Total	16	44	60 (100%)

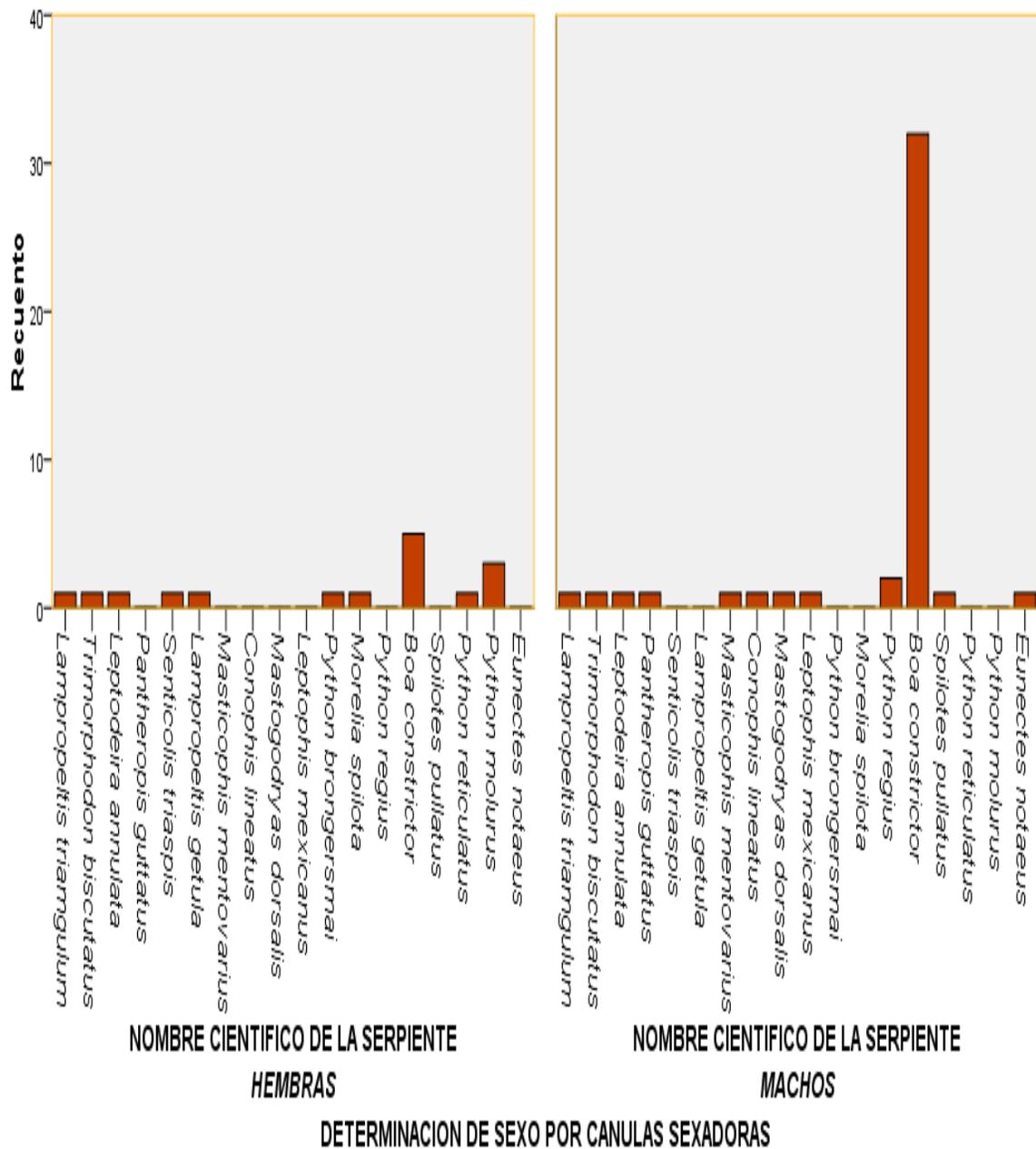


Figura 21. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el sexo determinado por cánulas.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 16 hembras y 44 machos.

Cuadro 6. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el sexo de la serpiente determinado por cánulas.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA*DETERMINACION DE SEXO POR CANULAS			
Bacterias \ Sexo	Macho	Hembra	N (%)
Negativo(*)	8	20	28 (46.7%)
Enterobacter sp.	2	0	2 (3.3%)
Escherichia coli	2	3	5 (8.3%)
Hafnia alvei	1	2	3 (5.0%)
Proteus sp.	1	3	4 (6.7%)
Proteus mirabilis	2	9	11 (18.3%)
Proteus vulgaris	0	4	4 (6.7%)
Shigella sonnei	0	1	1 (1.7%)
Staphylococcus albus coagulasa (-)	0	1	1 (1.7%)
Staphylococcus sp.	0	1	1 (1.7%)
Total	16	44	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

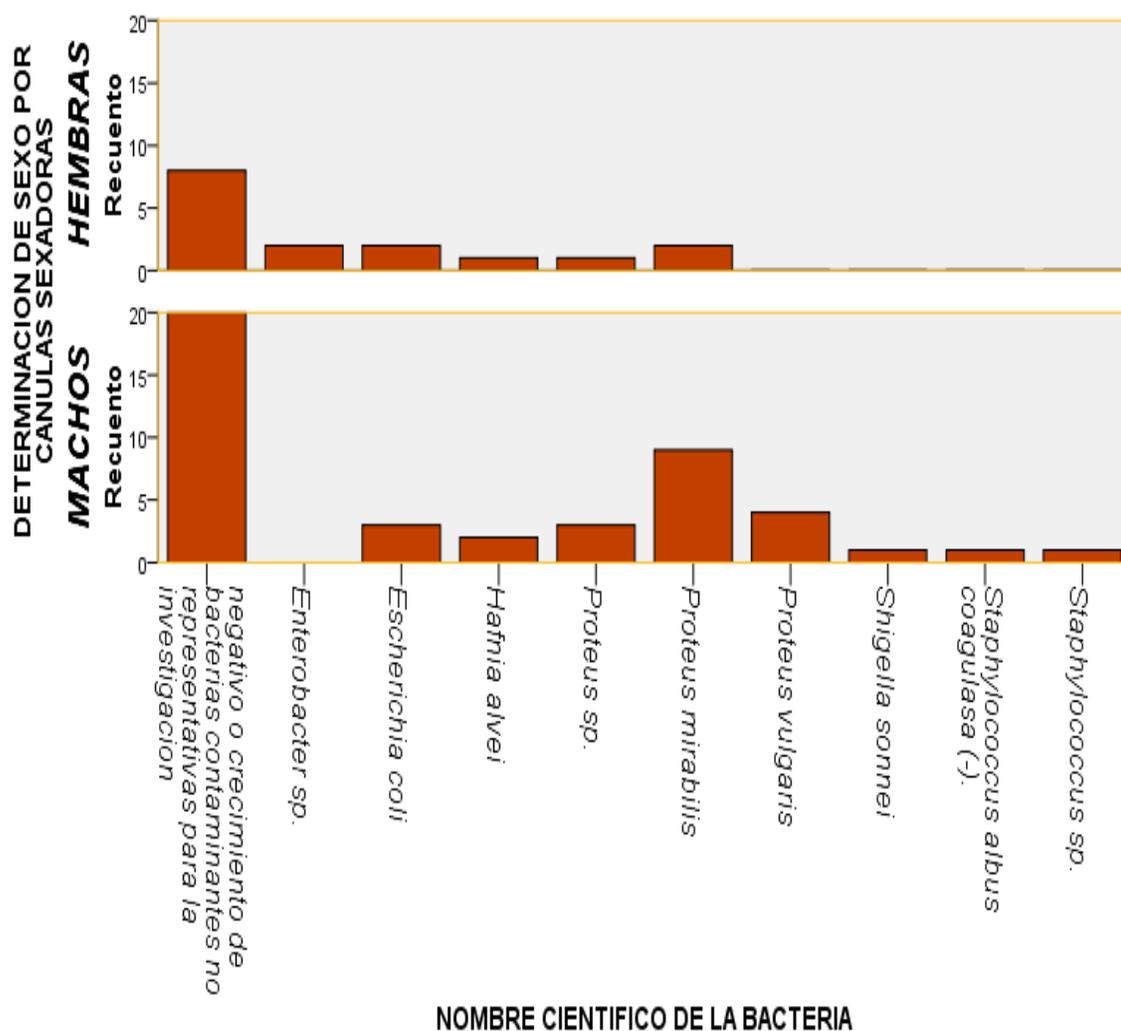


Figura 22. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando el nombre científico de la bacteria con el sexo de la serpiente determinado por cánulas.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 9 tipos diferentes de bacterias tanto en hembras como en machos de los cuales se obtuvo 28 resultados negativos (8 en hembras y 20 en machos), 2 *Enterobacter sp.* (2 en hembras y 0 en machos), 5 *Escherichia coli* (2 en hembras y 3 en machos), 19 *Proteus (sp, mirabilis o vulgaris)* (3 en hembras y 16 en machos), 3 *Hafnia alvei* (1 en hembras y 2 en machos), 1 *Shigella sonnei* (en un macho) y 2 *Staphylococcus (albus coagulasa (-) y sp.)* En machos).

Cuadro 7. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el peso en onzas según su número de clase (límite inferior y superior).

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE* PESO EN ONZAS SEGUN SU NUMERO DE CLASE(LIMITE INFERIOR Y SUPERIOR)						
Serpientes \ Peso	(LI2.00-LS1761.60)	(LI1761.61-LS3521.20)	(LI3521.21-LS5280.80)	(LI5280.81-LS7040.40)	(LI7040.41-LS8800.00)	N (%)
<i>Lampropeltis triamgulum</i>	2	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Trimorphodon biscutatus</i>	2	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Leptodeira annulata</i>	2	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Pantheropsis guttatus</i>	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Senticolis triaspis</i>	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis getula</i>	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis mentovarius</i>	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Conophis lineatus</i>	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Mastogodryas dorsalis</i>	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Leptophis mexicanus</i>	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python brongersmai</i>	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Morelia spilota</i>	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python regius</i>	2	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Boa constrictor</i>	37	0	0	0	0	37 (61.7%)
<i>Spilotes pullatus</i>	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python reticulatus</i>	0	0	0	1	0	1 (1.7%)
<i>Python molurus</i>	0	1	1	0	1	3 (5.0%)
<i>Eunectes notaeus</i>	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
Total	56	1	1	1	1	60 (100%)

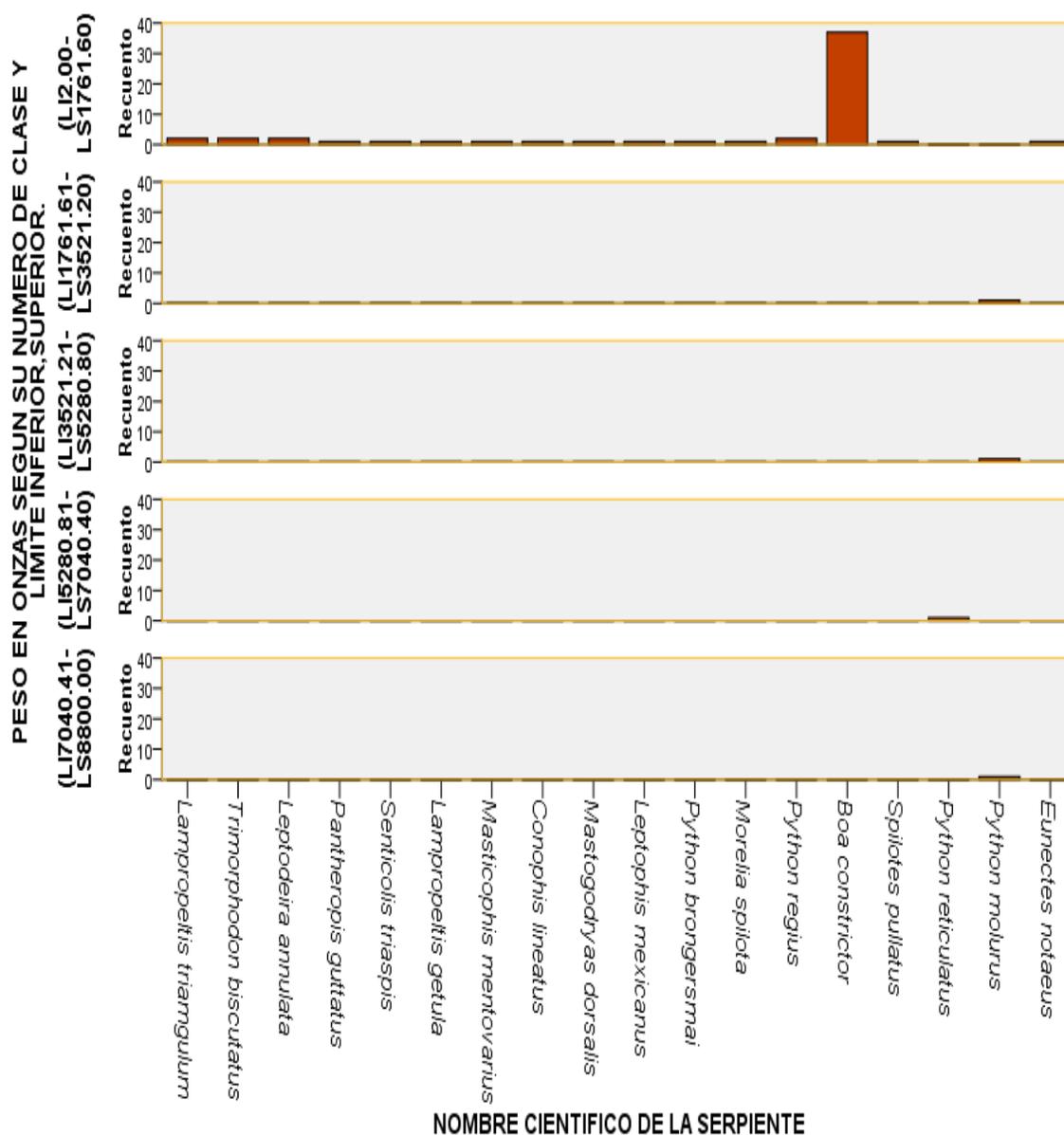


Figura 23. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el peso en onzas según su número de clase y límite inferior y superior.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 56 con un peso en onzas dentro de la clase #1 (li2.00-ls1761.60), 1 en la clase #2 (li1761.61-ls3521.20), 1 en la clase #3 (li3521.21-ls5280.80), 1 en la clase #4 (li5280.81-ls7040.40) y 1 en la clase #5 (li7040.41-ls8800.00).

Cuadro 8. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el peso en onzas de la serpiente según su número de clase y límite inferior y superior

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA*PESO EN ONZAS SEGUN SU MERO DE CLASE(LIMITE INFERIOR Y SUPERIOR)						
Bacterias \ Peso	(LI2.00-LS1761.60)	(LI1761.61-LS3521.20)	(LI3521.21-LS5280.80)	(LI5280.81-LS7040.40)	(LI7040.41-LS8800.00)	N (%)
Negativo(*)	28	0	0	0	0	28 (46.7%)
Enterobacter sp.	0	1	1	0	0	2 (3.3%)
Escherichia coli	5	0	0	0	0	5 (8.3%)
Hafnia alvei	2	0	0	1	0	3 (5.0%)
Proteus sp.	3	0	0	0	1	4 (6.7%)
Proteus mirabilis	11	0	0	0	0	11 (18.3%)
Proteus vulgaris	4	0	0	0	0	4 (6.7%)
Shigella sonnei	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
Staphylococcus albus coagulasa (-)	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
Staphylococcus sp.	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
Total	56	1	1	1	1	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

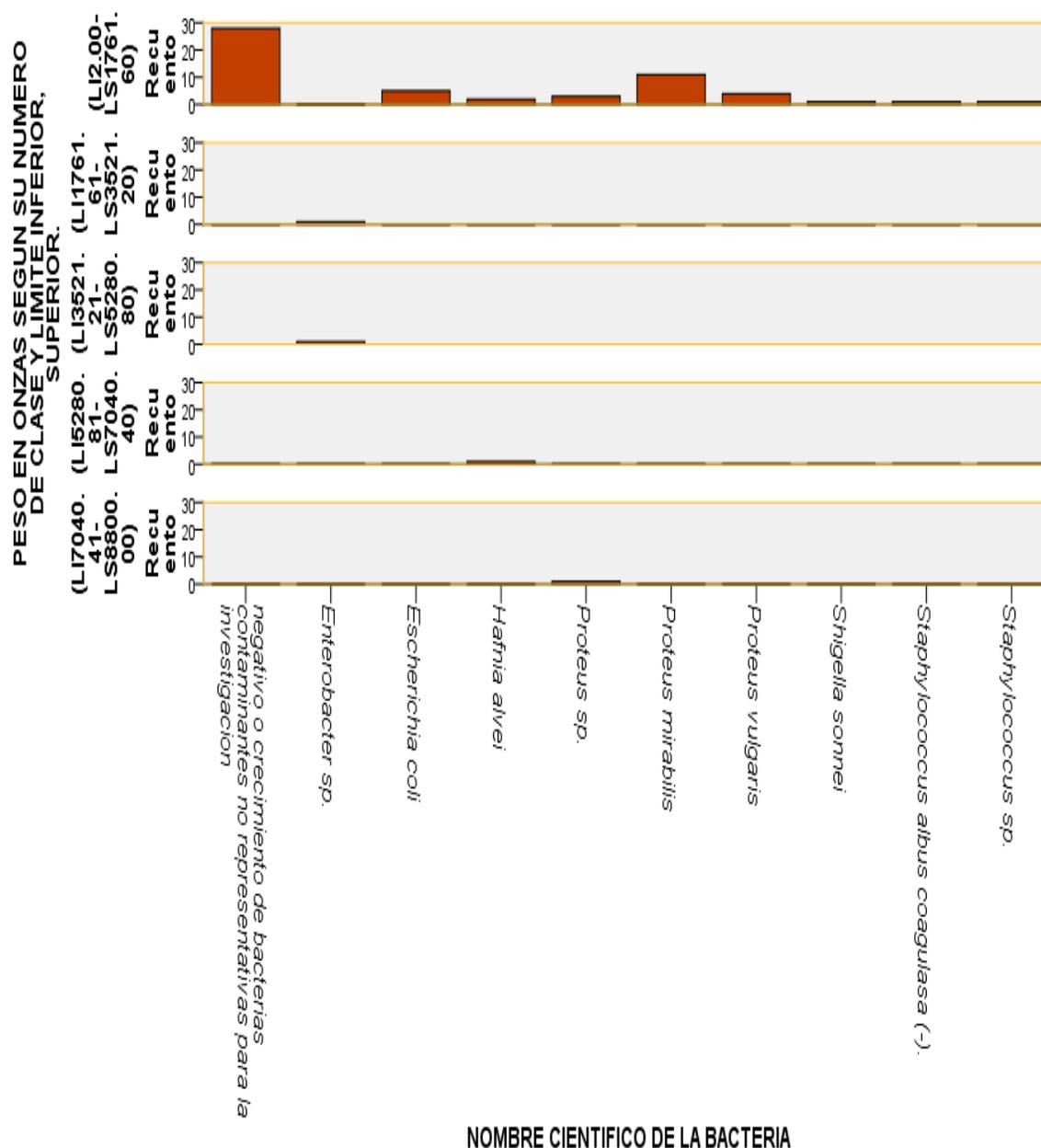


Figura 24. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el peso en onzas de la serpiente según su número de clase y límite inferior y superior

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron las siguientes bacterias distribuidas dentro de los pesos en onzas de las clases #1 (li.2.00-

Is1761.60) (28 resultados negativos, 5 *Escherichia coli*, 2 *Hafnia alvei*, 3 *Proteus sp*, 11 *Proteus mirabilis*, 4 *Proteus vulgaris*, 1 *Shigella sonnei*, 1 *Staphylococcus sp*, 1 *Staphylococcus albus coagulasa (-)*, en la clase #2 (li1761.60-Is3521.20) 1 *Enterobacter sp*, en la clase #3 (li3521.21-Is5280.80) 1 *Enterobacter sp*, en la clase # 4(li5280.81-Is7040.40) 1 *Hafnia alvei* y en la clase # 5 (li7040.41-Is8800.00)1 *Proteus sp*.

Cuadro 9. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con su clasificación de acuerdo a la disposición de su dentadura.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE*CLASIFICACION SEGUN SU DENTADURA			
Dentadura Serpientes	Aglifa	Opistoglifa	N (%)
<i>Lampropeltis triamgulum</i>	2	0	2 (3.3%)
<i>Trimorphodon biscutatus</i>	0	2	2 (3.3%)
<i>Leptodeira annulata</i>	0	2	2 (3.3%)
<i>Pantheropis guttatus</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Senticolis triaspis</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis getula</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis mentovarius</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Conophis lineatus</i>	0	1	1 (1.7%)
<i>Mastogodryas dorsalis</i>	0	1	1 (1.7%)
<i>Leptophis mexicanus</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Python brongersmai</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Morelia spilota</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Python regius</i>	2	0	2 (3.3%)
<i>Boa constrictor</i>	37	0	37 (61.7%)
<i>Spilotes pullatus</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Python reticulatus</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Python molurus</i>	3	0	3 (5.0%)
<i>Eunectes notaeus</i>	1	0	1 (1.7%)
Total	54	6	60 (100%)

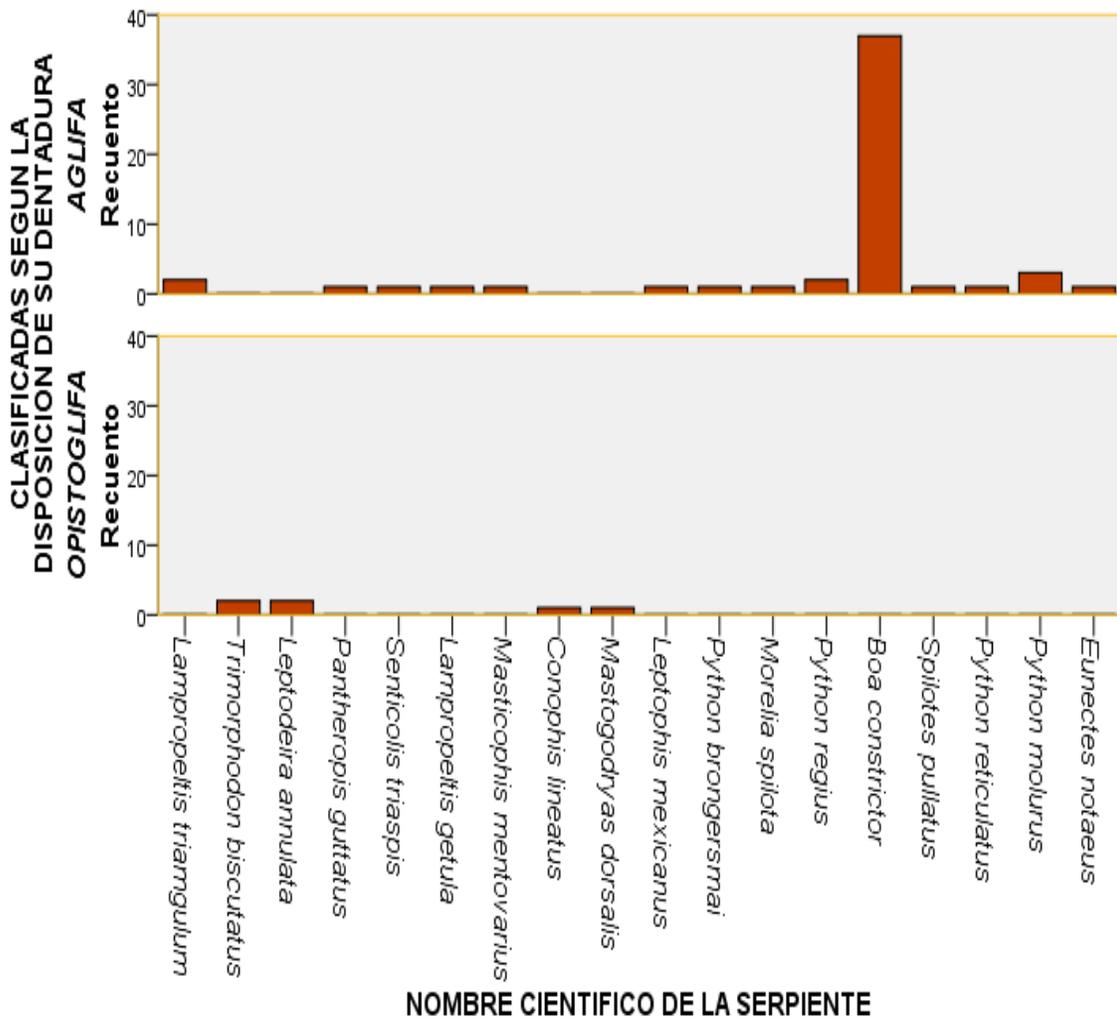


Figura 25. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con su clasificación de acuerdo a la disposición de su dentadura.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 54 aglifas y 6 opistoglifas.

Cuadro 10. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria y la clasificación de acuerdo a la disposición de la dentadura de la serpiente.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA*CLASIFICACION SEGUN SU DENTADURA			
Dentadura \ Bacterias	<i>Aglifa</i>	<i>Opistoglifa</i>	N (%)
Negativo(*)	25	3	28 (46.7%)
<i>Enterobacter sp.</i>	2	0	2 (3.3%)
<i>Escherichia coli</i>	2	3	5 (8.3%)
<i>Hafnia alvei</i>	3	0	3 (5.0%)
<i>Proteus sp.</i>	4	0	4 (6.7%)
<i>Proteus mirabilis</i>	11	0	11 (18.3%)
<i>Proteus vulgaris</i>	4	0	4 (6.7%)
<i>Shigella sonnei</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus albus coagulasa (-)</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus sp.</i>	1	0	1 (1.7%)
Total	54	6	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

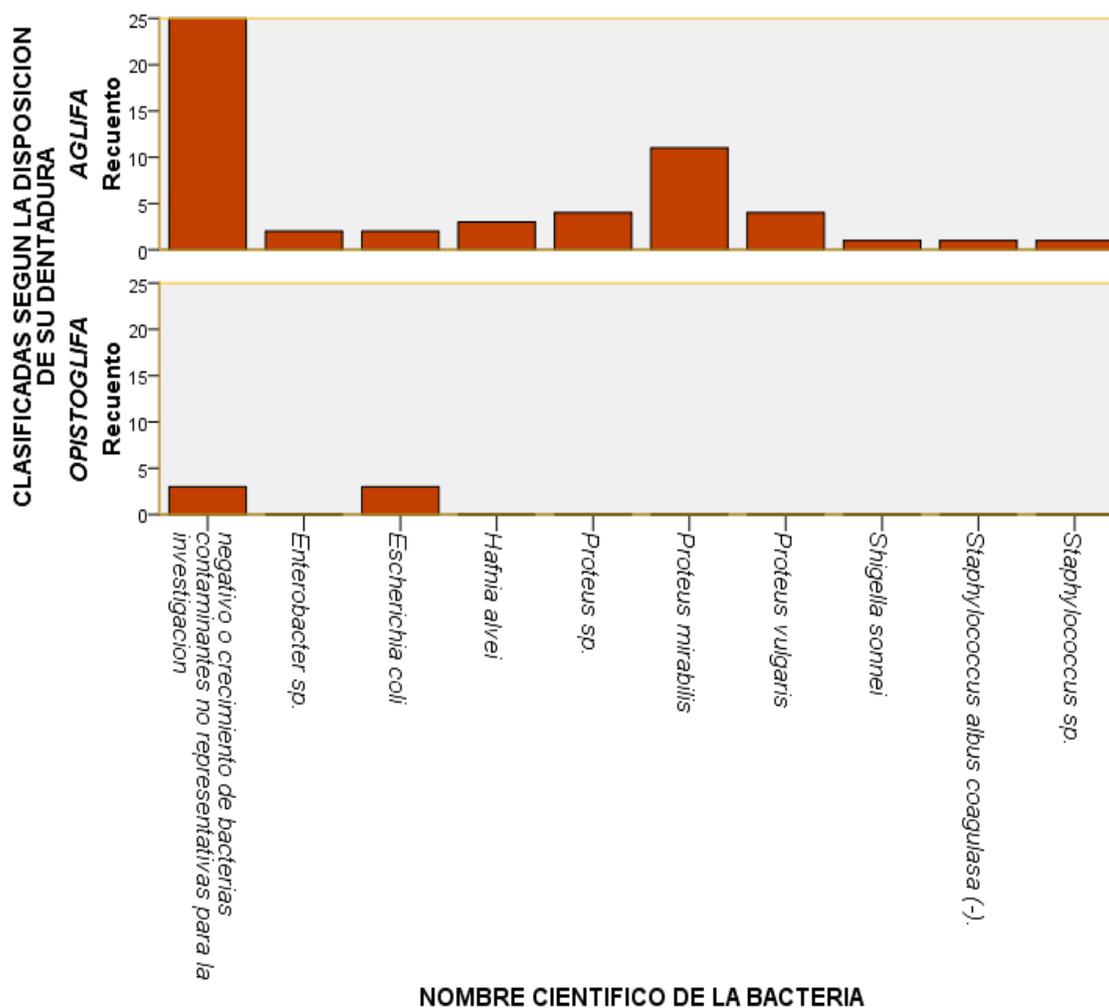


Figura 26. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria y la clasificación de acuerdo a la disposición de la dentadura de la serpiente.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron las siguientes bacterias clasificadas según la disposición de su dentadura 28 resultados negativos (25 aglifa 3 opistoglifa), *Escherichia coli* (2 aglifa 3 opistoglifa), *Hafnia alvei* (3 aglifa), *Proteus sp.* (4 aglifa), *Proteus mirabilis* (11 aglifa), *Proteus vulgaris* (4 aglifa), *Shigella sonnei* (1 aglifa), *Staphylococcus sp* (1 aglifa), *Staphylococcus albus coagulasa* (-) (1 aglifa), *Enterobacter sp* (2 aglifa).

Cuadro 11. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con su clasificación según el tipo de alimentación que recibe.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE*ALIMENTACION											
Alimentacion Serpientes	Peques de raton	Raton	Pinquis de rata	Pollo (1dia) Rata	Peludos de raton	Lagartija y Raton	Pollo (1dia)Ra ton	Conejo	Renacuajo	Rata	N (%)
<i>Lampropeltis triangulum</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Trimorphodon biscutatus</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Leptodeira annulata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2 (3.3%)
<i>Pantheropis guttatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Senticolis triaspis</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis getula</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis mentovarius</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Conophis lineatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Mastogodryas dorsalis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Leptophis mexicanus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python brongersmai</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Morelia spilota</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python regius</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Boa constrictor</i>	0	0	0	9	2	0	26	0	0	0	37 (61.7%)
<i>Spilotes pullatus</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python reticulatus</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python molurus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	3 (5.0%)
<i>Eunectes notaeus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1 (1.7%)
Total	10	2	1	11	2	1	27	1	2	3	60 (100%)

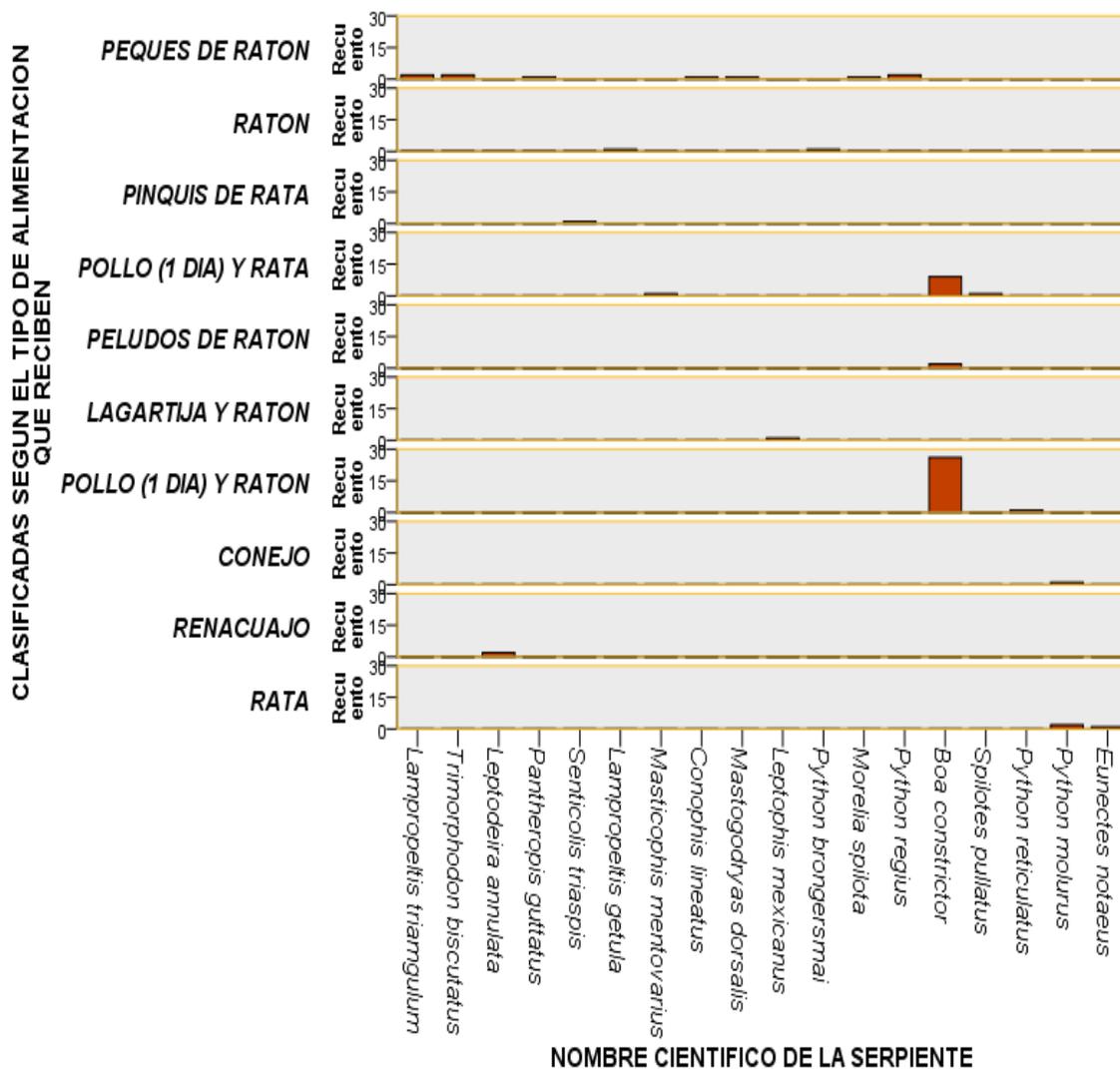


Figura 27. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con su clasificación según el tipo de alimentación que recibe.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional De El Salvador se encontró la siguiente clasificación alimenticia peques de ratón, pinquis de rata, pollo (1 día) y rata, peludos de ratón, lagartija y ratón, pollo (1 día) y ratón, conejo, renacuajo y rata.

Cuadro 12. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria y la clasificación de la serpiente según el tipo de alimentación que recibe.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA*ALIMENTACION											
Alimentacion Bacterias	Peques de raton	Raton	Pinquis de rata	Pollo (1dia) Rata	Peludos de raton	Lagartija y Raton	Pollo (1dia)Raton	Conejo	Renacuajo	Rata	N (%)
Negativo(*)	7	2	1	2	2	1	13	0	0	0	28 (46.7%)
<i>Enterobacter sp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2 (3.3%)
<i>Escherichia coli</i>	2	0	0	0	0	0	1	0	2	0	5 (8.3%)
<i>Hafnia alvei</i>	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	3 (5.0%)
<i>Proteus sp.</i>	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	4 (6.7%)
<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	0	6	0	0	5	0	0	0	11 (18.3%)
<i>Proteus vulgaris</i>	0	0	0	0	0	0	3	0	0	1	4 (6.7%)
<i>Shigella sonnei</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus albus coagulasa (-)</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus sp.</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
Total	10	2	1	11	2	1	27	1	2	3	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

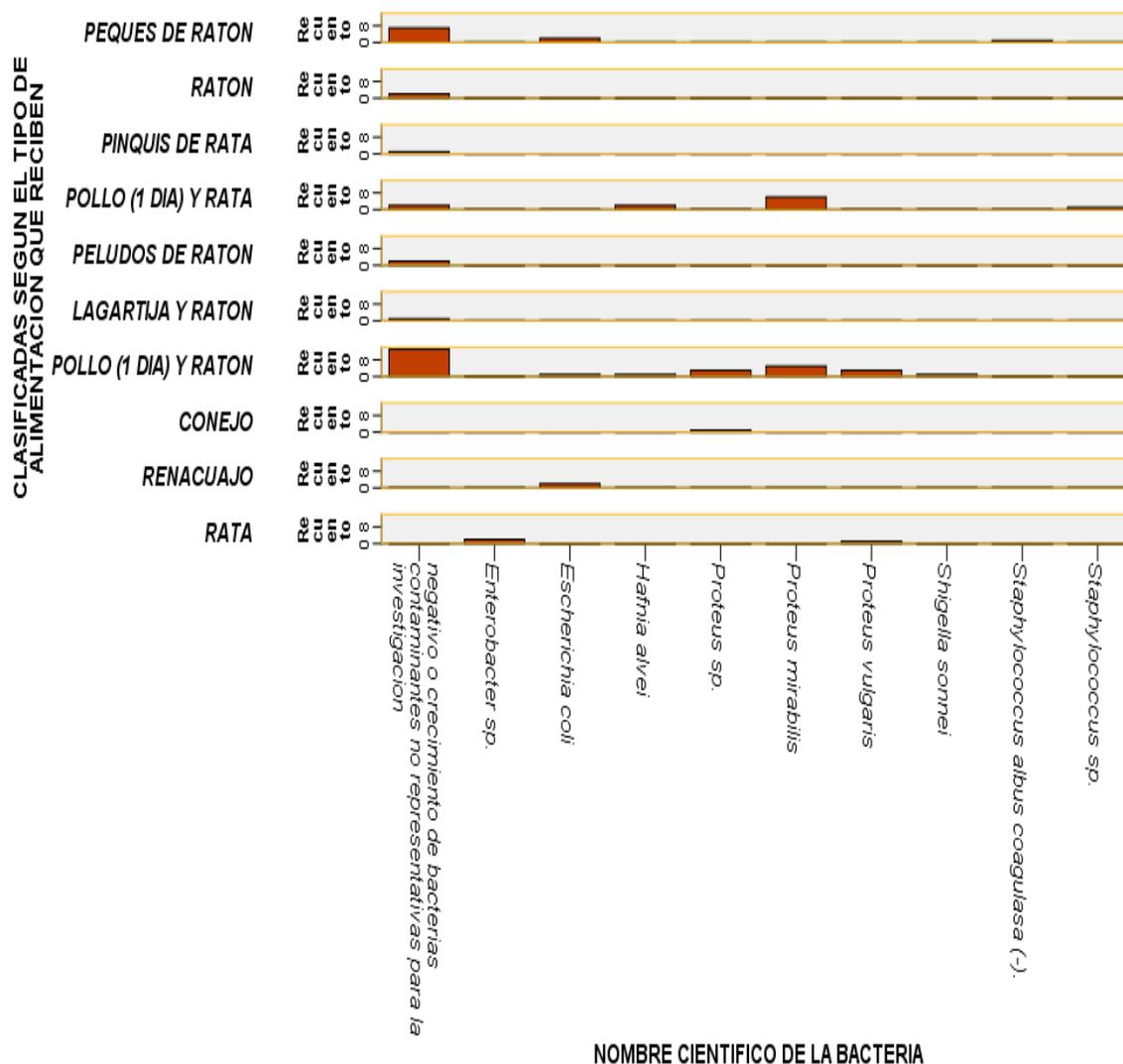


Figura 28. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria y la clasificación de la serpiente según el tipo de alimentación que recibe.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontró la siguiente clasificación alimenticia con respecto a las bacterias determinadas: 28 resultados negativos, *E. coli*, *Staphylococcus albus coagulasa (-)* en (peques de ratón), ninguna bacteria en (pinquis de rata), *E. coli*, *Hafnia alvei*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* y *Staphylococcus sp.* En (pollo (1 día) y rata), ninguna bacteria en (peludos de ratón, lagartija y ratón), *Hafnia*

alvei, *Proteus sp.*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Shigella sonnei* en (pollo (1 día) y ratón), *Proteus sp.* En (conejo), *E. coli* en (renacuajo) y *Proteus vulgaris* en (rata).

Cuadro 13. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con la temperatura del terrario.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE*TEMPERATURA DEL TERRARIO					
Temperatura Serpiente	24°C	25°C	26°C	27°C	N (%)
<i>Lampropeltis triamgulum</i>	0	2	0	0	2 (3.3%)
<i>Trimorphodon biscutatus</i>	0	2	0	0	2 (3.3%)
<i>Leptodeira annulata</i>	2	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Pantheropsis guttatus</i>	0	0	1	0	1 (1.7%)
<i>Senticolis triaspis</i>	0	0	1	0	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis getula</i>	0	0	1	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis mentovarius</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Conophis lineatus</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Mastogodryas dorsalis</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Leptophis mexicanus</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Python brongersmai</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Morelia spilota</i>	0	0	1	0	1 (1.7%)
<i>Python regius</i>	0	0	0	2	2 (3.3%)
<i>Boa constrictor</i>	4	12	21	0	37 (61.7%)
<i>Spilotes pullatus</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Python reticulatus</i>	0	0	0	1	1 (1.7%)
<i>Python molurus</i>	0	0	3	0	3 (5.0%)
<i>Eunectes notaeus</i>	0	0	1	0	1 (1.7%)
Total	6	22	29	3	60 (100%)

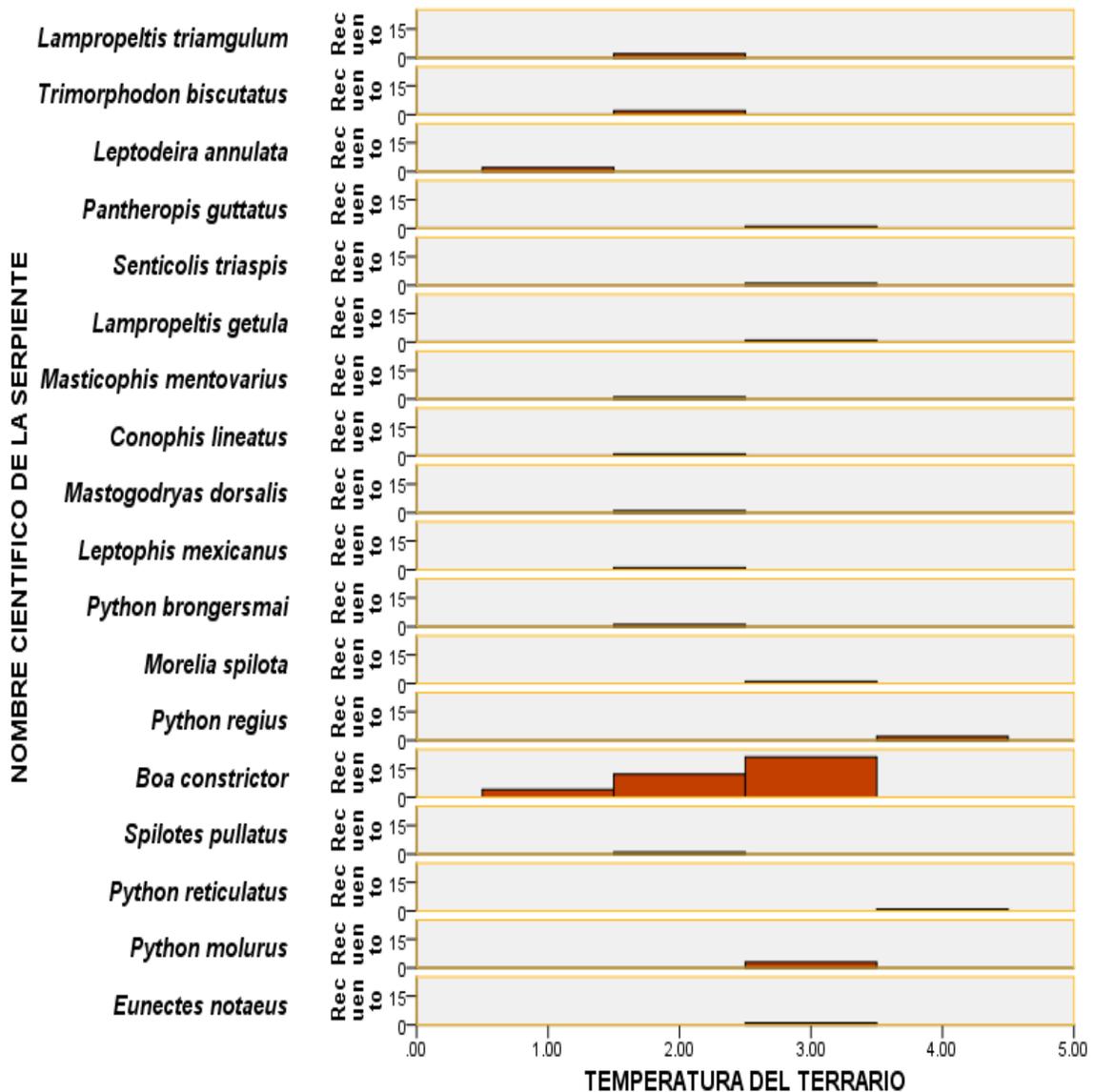


Figura 29. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con la temperatura del terrario.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontró 4 tipos de temperaturas 24, 25, 26 y 27 grados centígrados en diferentes terrarios.

Cuadro 14. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con la temperatura del terrario.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA*TEMPERATURA DEL TERRARIO					
Temperatura Bacterias	24°C	25°C	26°C	27°C	N (%)
Negativo(*)	3	9	15	1	28 (46.7%)
Enterobacter sp.	0	0	2	0	2 (3.3%)
Escherichia coli	2	2	0	1	5 (8.3%)
Hafnia alvei	0	2	0	1	3 (5.0%)
Proteus sp.	0	1	3	0	4 (6.7%)
Proteus mirabilis	0	6	5	0	11 (18.3%)
Proteus vulgaris	1	0	3	0	4 (6.7%)
Shigella sonnei	0	1	0	0	1 (1.7%)
Staphylococcus albus coagulasa (-)	0	0	1	0	1 (1.7%)
Staphylococcus sp.	0	1	0	0	1 (1.7%)
Total	6	22	29	3	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

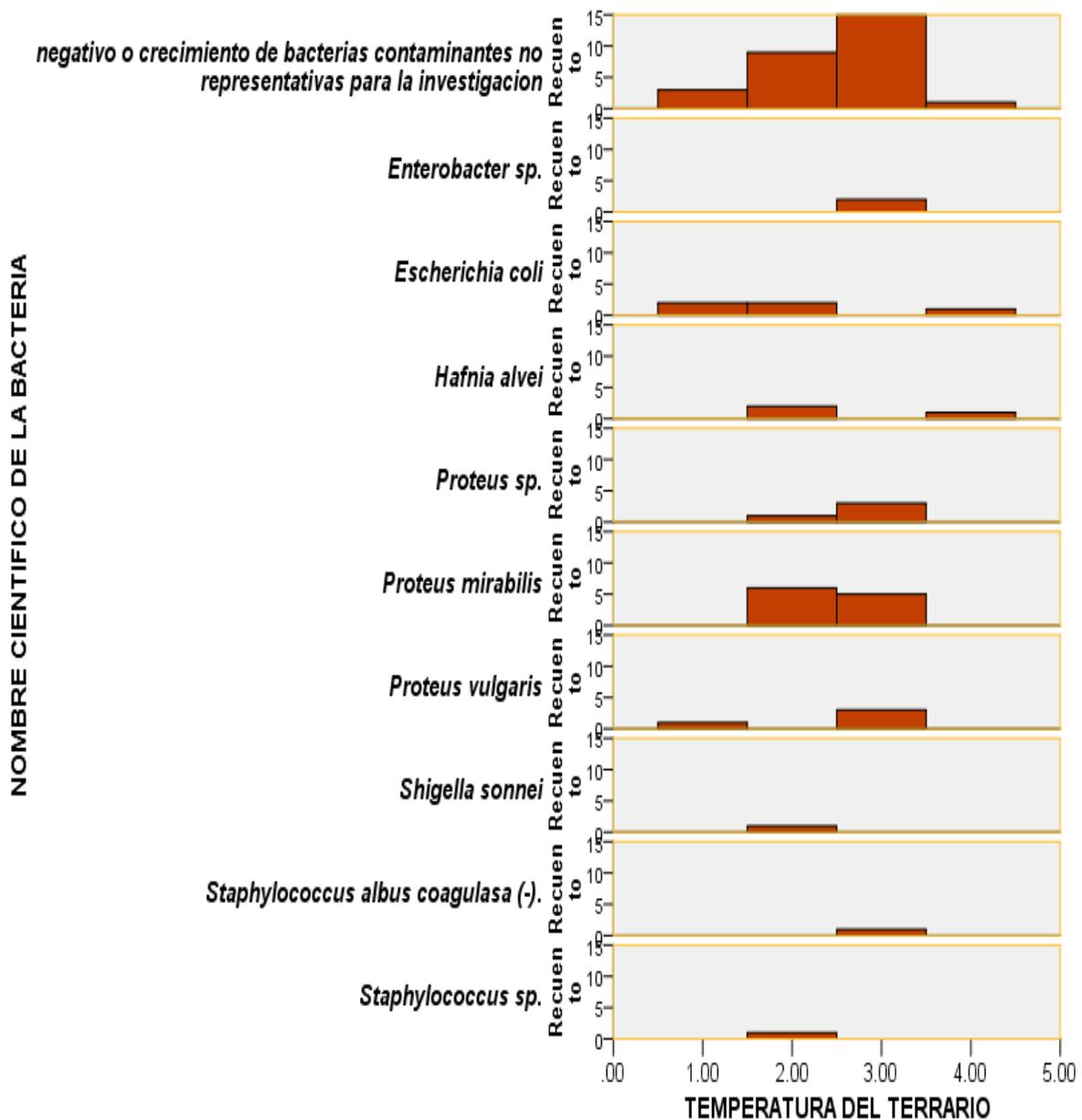


Figura 30. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con la temperatura del terrario.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron los siguientes tipos de bacterias con respecto a las diferentes temperaturas de los terrarios 24°C (*E. coli* y *Proteus vulgaris*), 25°C (*E. coli*, *Hafnia alvei*, *Proteus sp.*, *Proteus mirabilis*, *Shigella*

sonnei y *Staphylococcus* sp.) 26°C (*Enterobacter* sp, *Proteus* sp., *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus albus coagulasa* (-) y 27 °C (*E. coli* y *Hafnia alvei*).

Cuadro 15. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el número de serpientes por terrario.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE *NUMERO DE SERPIENTES POR TERRARIO							
Serpientes \ # Terrario	1	2	3	4	9	21	N (%)
<i>Lampropeltis triamgulum</i>	0	2	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Trimorphodon biscutatus</i>	0	2	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Leptodeira annulata</i>	0	2	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Pantheropsis guttatus</i>	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Senticolis triaspis</i>	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis getula</i>	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis mentovarius</i>	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Conophis lineatus</i>	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Mastogodryas dorsalis</i>	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Leptophis mexicanus</i>	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python brongersmai</i>	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Morelia spilota</i>	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python regius</i>	0	2	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Boa constrictor</i>	1	0	6	0	9	21	37 (61.7%)
<i>Spilotes pullatus</i>	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python reticulatus</i>	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python molurus</i>	0	0	0	3	0	0	3 (5.0%)
<i>Eunectes notaeus</i>	0	0	0	1	0	0	1 (1.7%)
Total	12	8	6	4	9	21	60 (100%)

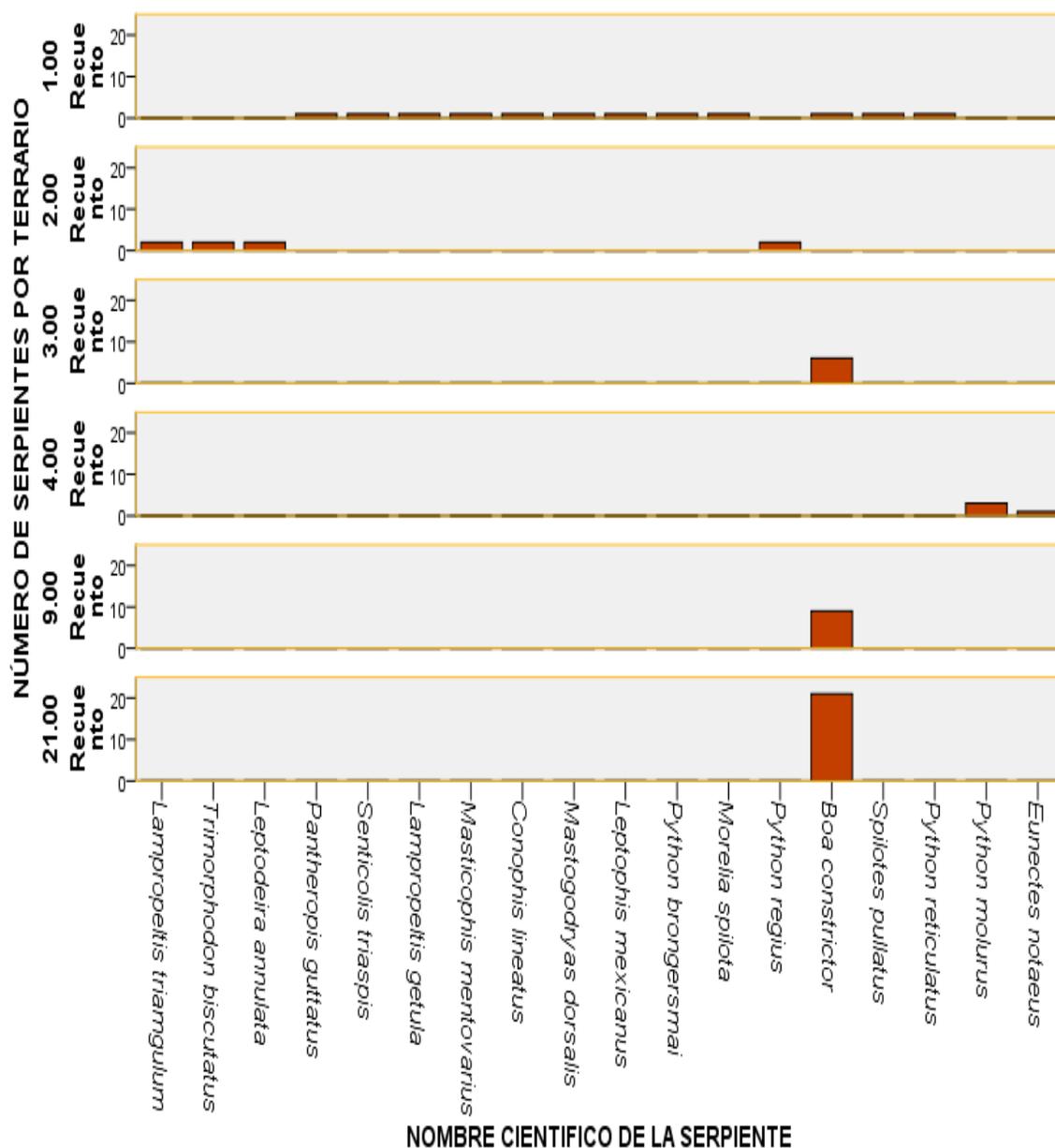


Figura 31. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el número de serpientes por terrario

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontró la siguiente cantidad de serpientes por terrario: 1, 2, 3, 4, 9, 21.

Cuadro 16. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el número de serpientes por terrario

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA*NUMERO DE SERPIENTES POR TERRARIO							
Bacterias \ # Terrario	1	2	3	4	9	21	N (%)
Negativo(*)	9	4	2	0	1	12	28 (46.7%)
Enterobacter sp.	0	0	2	0	0	0	2 (3.3%)
Escherichia coli	0	4	1	0	0	0	5 (8.3%)
Hafnia alvei	1	0	0	0	2	0	3 (5.0%)
Proteus sp.	0	0	1	1	0	2	4 (6.7%)
Proteus mirabilis	0	0	0	0	6	5	11 (18.3%)
Proteus vulgaris	0	0	1	1	0	2	4 (6.7%)
Shigella sonnei	0	0	1	0	0	0	1 (1.7%)
Staphylococcus albus coagulasa (-)	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
Staphylococcus sp.	1	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
Total	12	8	8	2	9	21	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

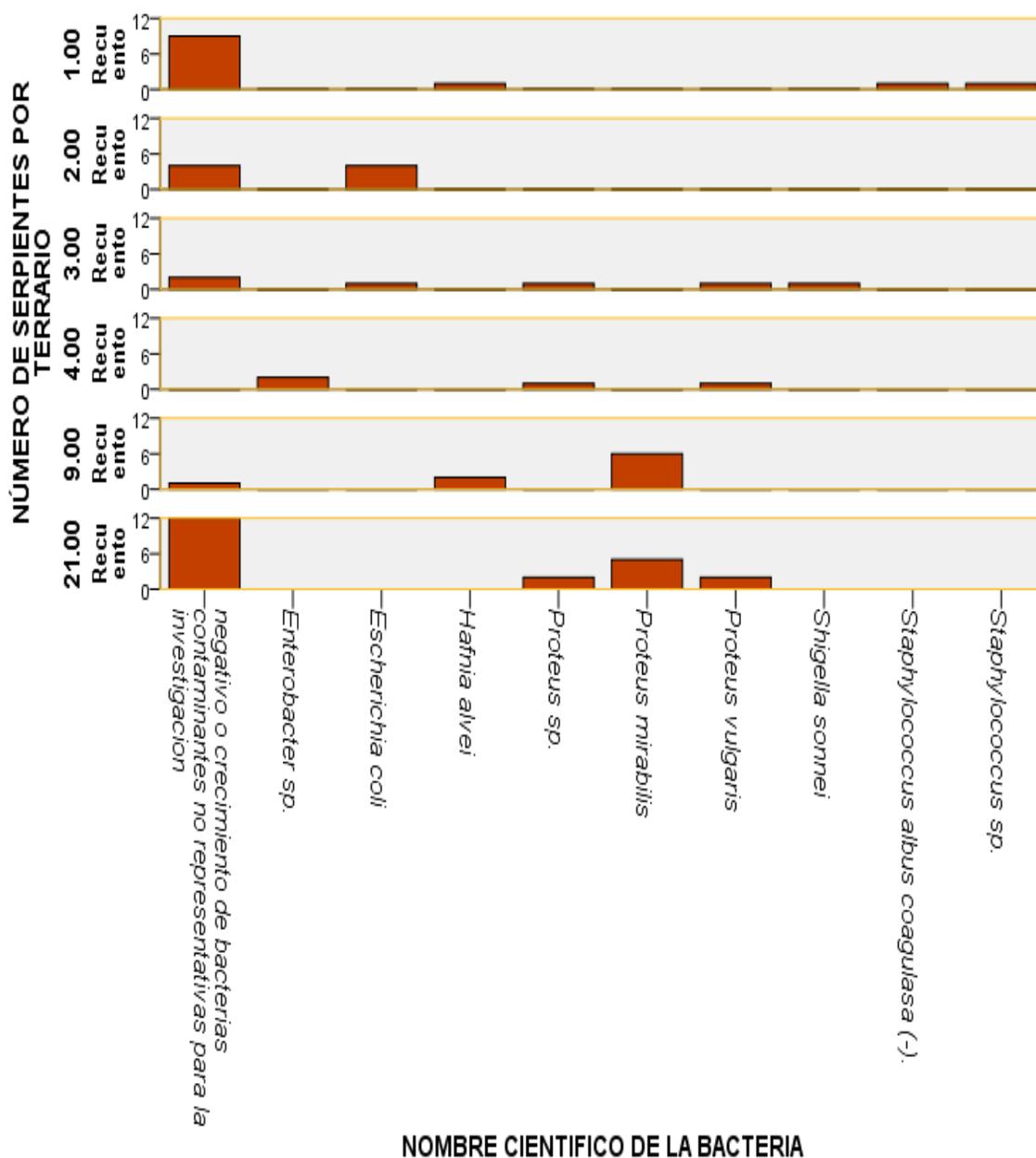


Figura 32. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el número de serpientes por terrario.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontró la siguiente cantidad de serpientes por terrario y cada una de las bacterias determinadas respectivamente: terrario en donde solo hay 1 serpiente (*Staphylococcus albus coagulasa (-)* y *Staphylococcus sp.*), terrario donde hay 2 serpientes (*E. coli*), terrario en donde hay 3

serpientes (*E. coli*, *Proteus sp.*, *Proteus vulgaris* y *Shigella sonnei*), terrario en donde hay 4 serpientes (*Enterobacter sp.*, *Hafnia alvei*, *Proteus sp.*, *Proteus vulgaris*), terrario en donde hay 9 serpientes (*Hafnia alvei*, *Proteus sp* y *Proteus mirabilis.*), terrario en donde hay hasta 21 serpientes (*Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris*).

Cuadro 17. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el tipo de iluminación del terrario.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE*TIPO DE ILUMINACION DEL TERRARIO			
Iluminacion Serpientes	Natural	Artificial	N (%)
<i>Lampropeltis triamgulum</i>	2	0	2 (3.3%)
<i>Trimorphodon biscutatus</i>	2	0	2 (3.3%)
<i>Leptodeira annulata</i>	2	0	2 (3.3%)
<i>Pantheropis guttatus</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Senticolis triaspis</i>	0	1	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis getula</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis mentovarius</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Conophis lineatus</i>	0	1	1 (1.7%)
<i>Mastogodryas dorsalis</i>	0	1	1 (1.7%)
<i>Leptophis mexicanus</i>	0	1	1 (1.7%)
<i>Python brongersmai</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Morelia spilota</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Python regius</i>	2	0	2 (3.3%)
<i>Boa constrictor</i>	37	0	37 (61.7%)
<i>Spilotes pullatus</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Python reticulatus</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Python molurus</i>	3	0	3 (5.0%)
<i>Eunectes notaeus</i>	1	0	1 (1.7%)
Total	56	4	60 (100%)

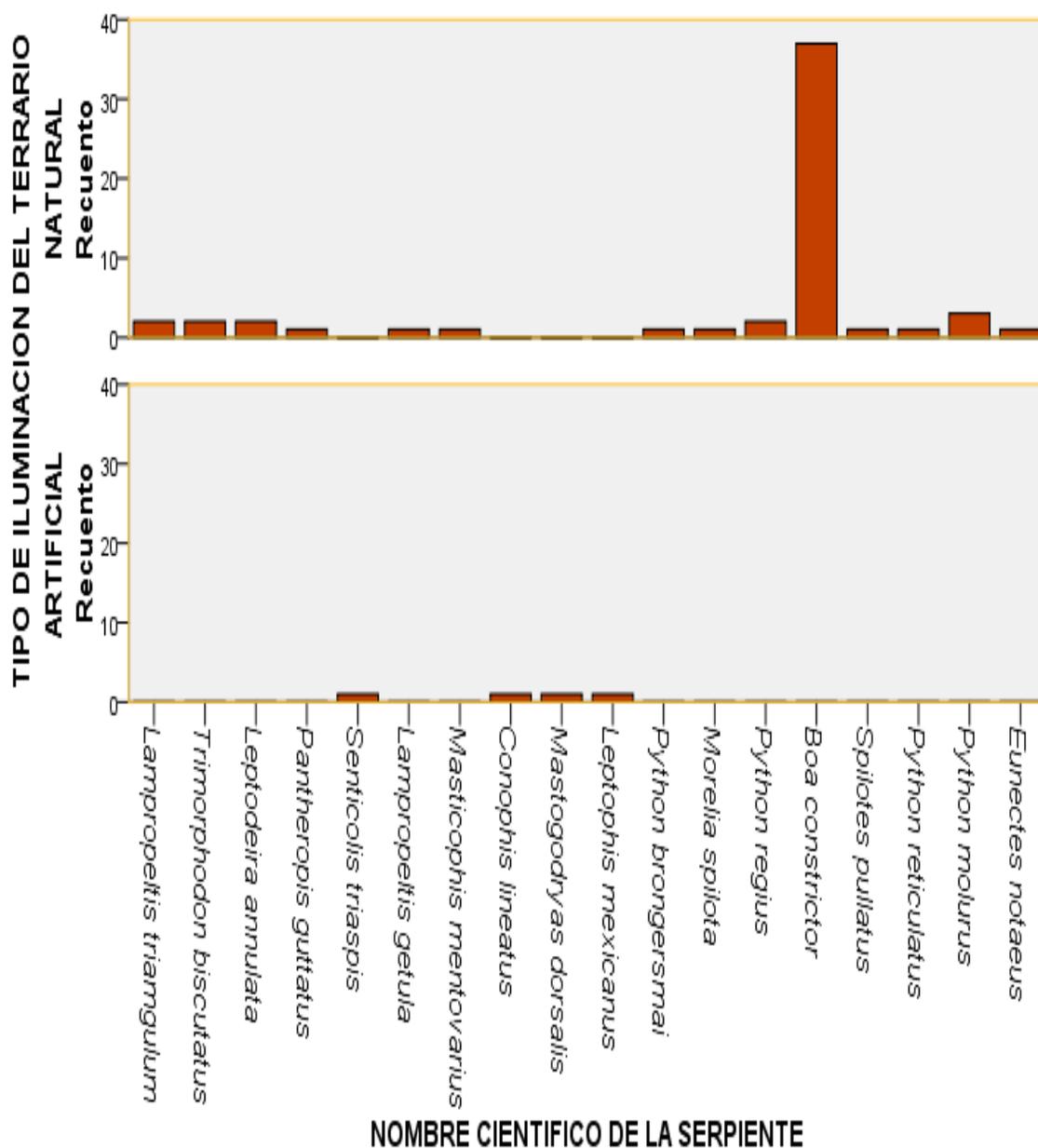


Figura 33. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con el tipo de iluminación del terrario.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 2 tipos de iluminación en los terrarios las cuales son naturales y artificiales.

Cuadro 18. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el tipo de iluminación del terrario.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA*TIPO DE ILUMINACION DEL TERRARIO			
Iluminacion Bacterias	<i>Natural</i>	<i>Artificial</i>	N (%)
Negativo(*)	24	4	28 (46.7%)
<i>Enterobacter sp.</i>	2	0	2 (3.3%)
<i>Escherichia coli</i>	5	0	5 (8.3%)
<i>Hafnia alvei</i>	3	0	3 (5.0%)
<i>Proteus sp.</i>	4	0	4 (6.7%)
<i>Proteus mirabilis</i>	11	0	11 (18.3%)
<i>Proteus vulgaris</i>	4	0	4 (6.7%)
<i>Shigella sonnei</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus albus coagulasa (-)</i>	1	0	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus sp.</i>	1	0	1 (1.7%)
Total	56	4	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

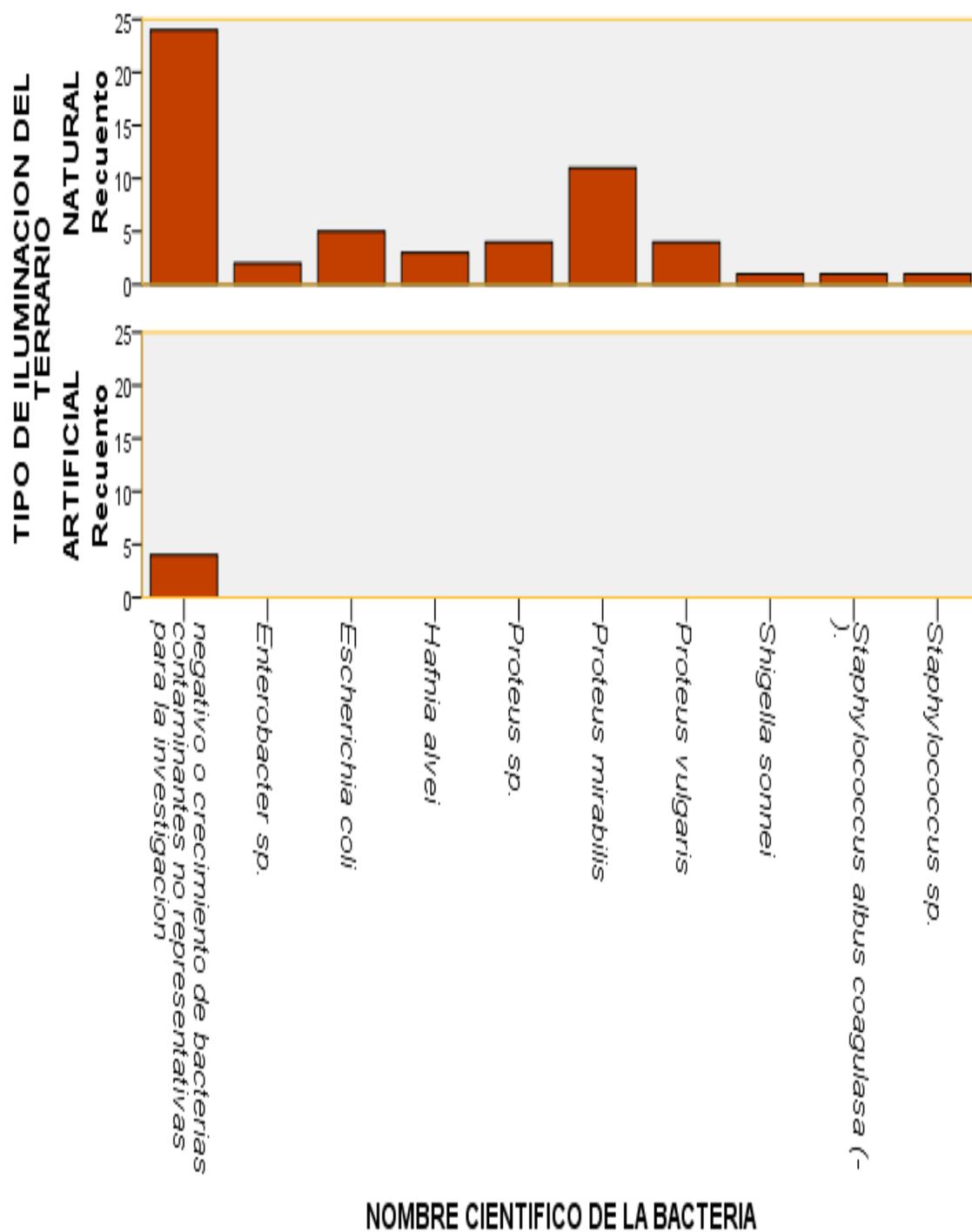


Figura 34. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el tipo de iluminación del terrario.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 2 tipos de iluminación en los terrarios las cuales son natural y artificial y cada uno de estos con las bacterias determinadas respectivamente obtuvimos 28 resultados negativos en general, en la iluminación artificial (ninguna bacteria) y en la iluminación natural (todas las bacterias determinadas: *Staphylococcus sp*, *Staphylococcus albus coagulasa* (-), *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Shigella sonnei*, *Proteus sp*, *Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris*).

Cuadro 19. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con los componentes de ambientación del terrario.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE*AMBIENTACION DEL TERRARIO					
Ambientacion Serpientes	Piso de tierra y tronco	Piso de cemento y tronco	Piso de tierra, tronco y pileta	Piso de cemento, tronco y pileta	N (%)
<i>Lampropeltis triamgulum</i>	2	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Trimorphodon biscutatus</i>	2	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Leptodeira annulata</i>	2	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Pantheropsis guttatus</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Senticolis triaspis</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis getula</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis mentovarius</i>	0	0	0	1	1 (1.7%)
<i>Conophis lineatus</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Mastogodryas dorsalis</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Leptophis mexicanus</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python brongersmai</i>	0	0	0	1	1 (1.7%)
<i>Morelia spilota</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Python regius</i>	0	2	0	0	2 (3.3%)
<i>Boa constrictor</i>	21	16	0	0	37 (61.7%)
<i>Spilotes pullatus</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Python reticulatus</i>	0	0	0	1	1 (1.7%)
<i>Python molurus</i>	0	0	3	0	3 (5.0%)
<i>Eunectes notaeus</i>	0	0	1	0	1 (1.7%)
Total	31	22	4	3	60 (100%)

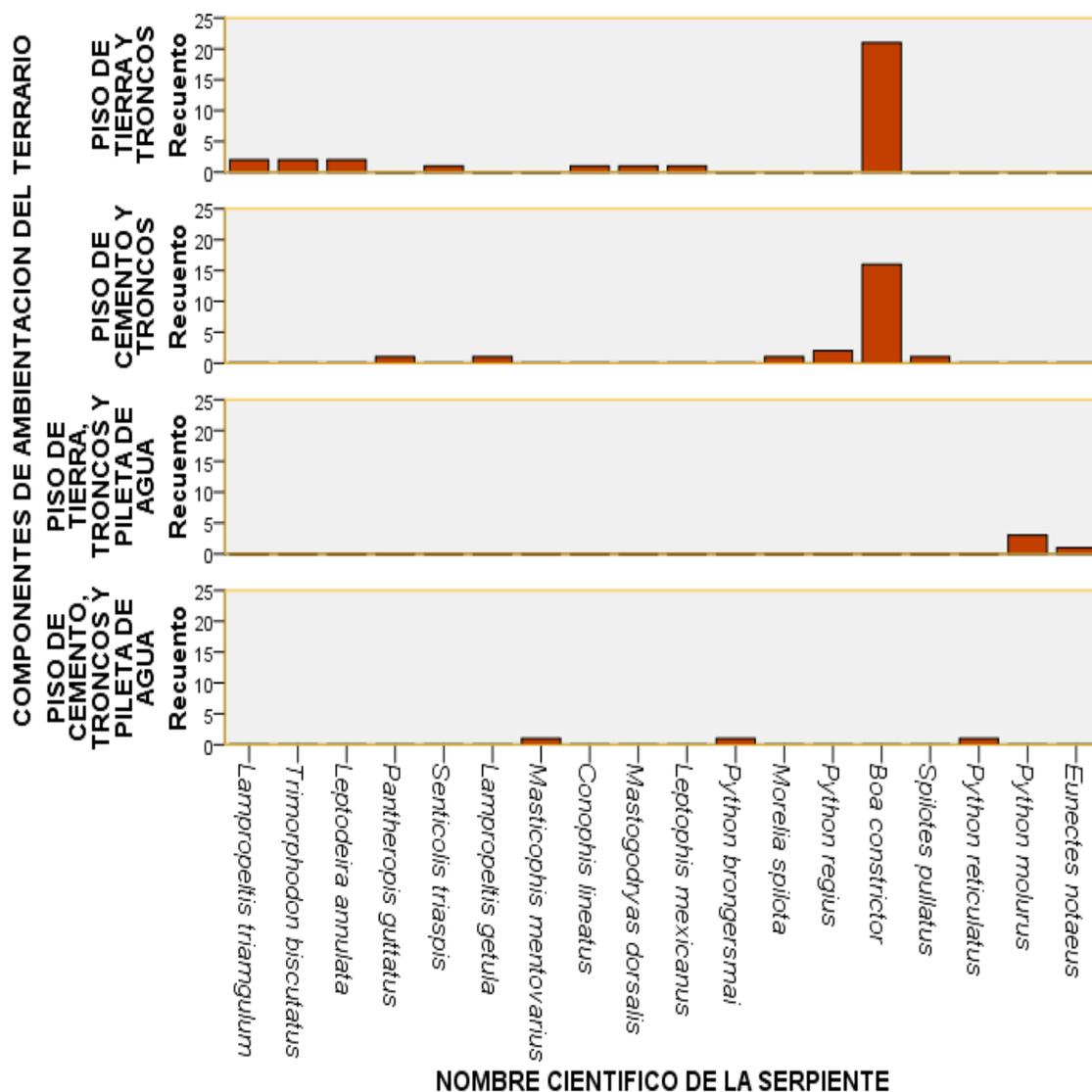


Figura 35. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con los componentes de ambientación del terrario.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 4 tipos diferentes de ambientación en los terrarios estos son: 1 piso de tierra y troncos, 2 piso de cemento y troncos, 3 piso de tierra; troncos y pileta de agua, 4 piso de cemento; troncos y pileta de agua).

Cuadro 20. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con los componentes de ambientación del terrario.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA* AMBIENTACION DEL TERRARIO					
Bacterias \ Ambientacion	<i>Piso de tierra y tronco</i>	<i>Piso de cemento y tronco</i>	<i>Piso de tierra, tronco y pileta</i>	<i>Piso de cemento, tronco y pileta</i>	N (%)
Negativo(*)	19	7	0	2	28 (46.7%)
<i>Enterobacter sp.</i>	0	0	2	0	2 (3.3%)
<i>Escherichia coli</i>	3	2	0	0	5 (8.3%)
<i>Hafnia alvei</i>	0	2	0	1	3 (5.0%)
<i>Proteus sp.</i>	2	1	1	0	4 (6.7%)
<i>Proteus mirabilis</i>	5	6	0	0	11 (18.3%)
<i>Proteus vulgaris</i>	2	1	1	0	4 (6.7%)
<i>Shigella sonnei</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus albus coagulasa (-)</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus sp.</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
Total	31	22	4	3	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

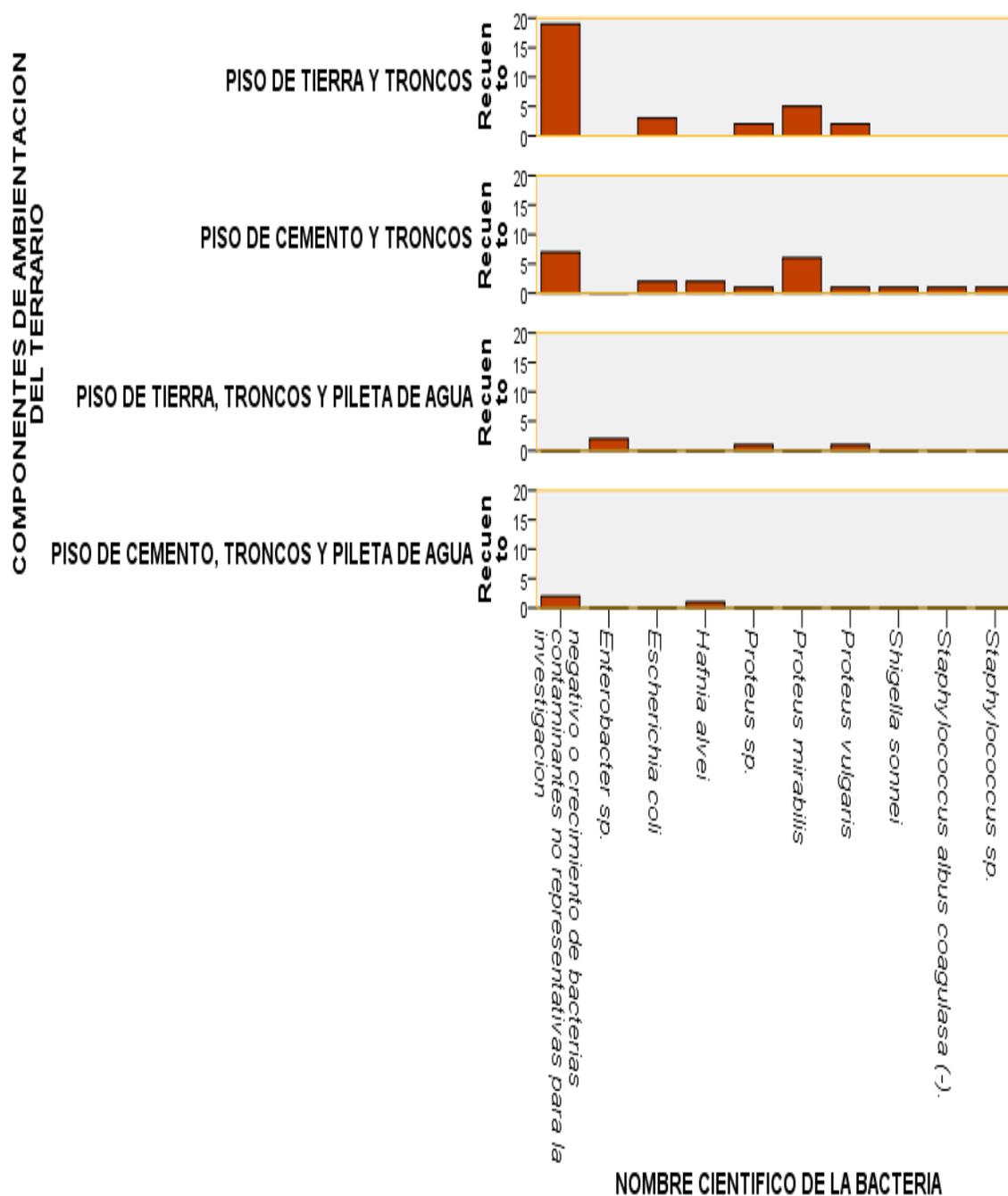


Figura 36. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con los componentes de ambientación del terrario.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 4 tipos

diferentes de ambientación en los terrarios con sus respectivas bacterias determinadas encontrando una mayor presencia de bacterias en las ambientaciones 1 y 2: piso de tierra y troncos (*E. coli*, *Proteus sp*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*.)Y piso de cemento y troncos (*E. coli*, *Proteus sp*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Hafnia alvei*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus albus coagulasa (-)* y *Staphylococcus sp*).

Cuadro 21. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con las bacterias aerobias aisladas de cada especie.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE*BACTERIAS AEROBIAS								
Bac. Aerobias Serpientes	Negativo(*)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus albus coagulasa (-)</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Enterobacter sp.</i>	N (%)
<i>Lampropeltis triamgulum</i>	2	0	0	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Trimorphodon biscutatus</i>	1	1	0	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Leptodeira annulata</i>	0	2	0	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Pantheropis guttatus</i>	0	0	1	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Senticolis triaspis</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis getula</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis mentovarius</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Conophis lineatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Mastogodryas dorsalis</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Leptophis mexicanus</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python brongersmai</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Morelia spilota</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python regius</i>	1	1	0	0	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Boa constrictor</i>	33	1	0	1	2	0	0	37 (61.7%)
<i>Spilotes pullatus</i>	0	0	0	0	0	1	0	1 (1.7%)
<i>Python reticulatus</i>	0	0	0	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Python molurus</i>	1	0	0	0	0	0	2	3 (5.0%)
<i>Eunectes notaeus</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (1.7%)
Total	47	5	1	1	3	1	2	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

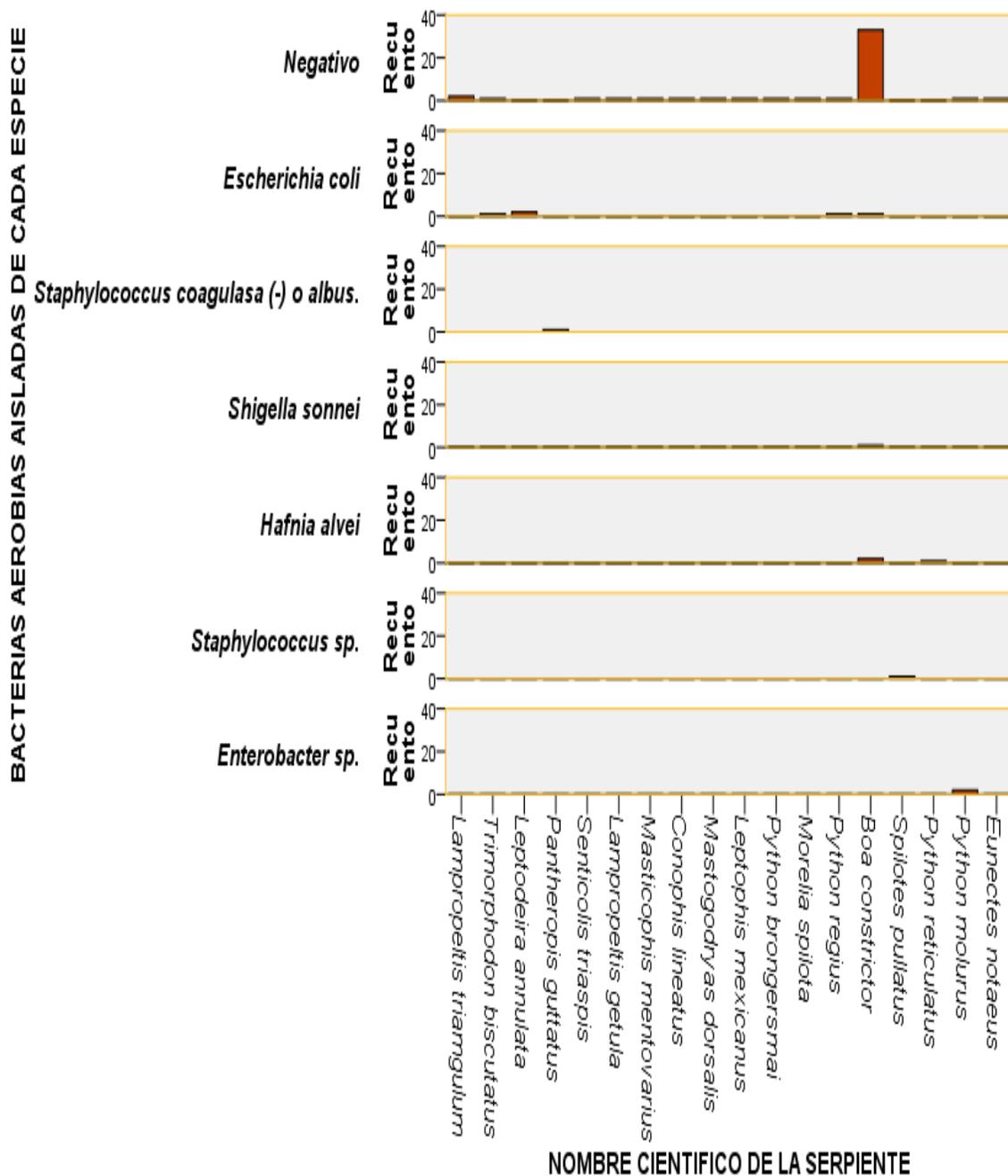


Figura 37. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con las bacterias aerobias aisladas de cada especie.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 9 tipos de

bacterias aerobias las cuales son: *Escherichia coli*, *Staphylococcus albus coagulasa* (-), *Shigella sonnei*, *Hafnia alvei*, *Staphylococcus sp* y *Enterobacter sp*.

Cuadro 22. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con las bacterias anaerobias aisladas de cada especie.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE*BACTERIAS ANAEROBIAS FACULTATIVAS					
Serpientes \ Bc. Anaerobias	Negativo(*)	<i>Protyeus sp.</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	N (%)
<i>Lampropeltis triamgulum</i>	2	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Trimorphodon biscutatus</i>	2	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Leptodeira annulata</i>	2	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Pantheropis guttatus</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Senticolis triaspis</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis getula</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis mentovarius</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Conophis lineatus</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Mastogodyras dorsalis</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Leptophis mexicanus</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python brongersmai</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Morelia spilota</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python regius</i>	2	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Boa constrictor</i>	17	2	16	2	37 (61.7%)
<i>Spilotes pullatus</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python reticulatus</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python molurus</i>	1	1	0	1	3 (5.0%)
<i>Eunectes notaeus</i>	0	0	0	1	1 (1.7%)
Total	37	3	16	4	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

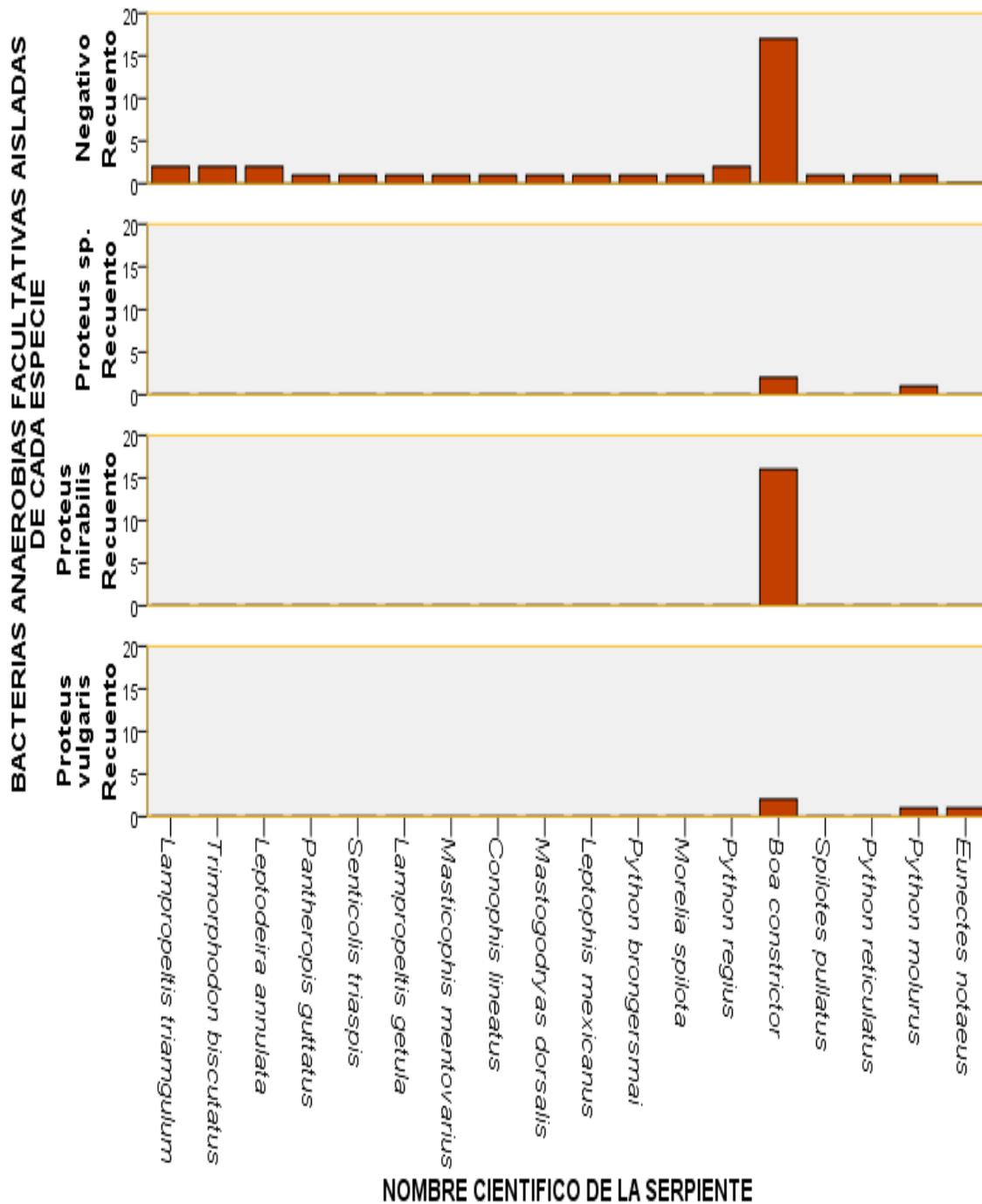


Figura 38. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la serpiente con las bacterias anaerobias aisladas de cada especie.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 3 tipos de bacterias anaerobias facultativas las cuales son: *Proteus sp*, *Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris*.

Cuadro 23. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con la reacción al Gram.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA*REACCION AL GRAM				
Bacterias \ Gram(+ / -)	Negativo(*)	Gram negativo	Gram positivo	N (%)
Negativo(*)	28	0	0	28 (46.7%)
<i>Enterobacter sp.</i>	0	2	0	2 (3.3%)
<i>Escherichia coli</i>	0	5	0	5 (8.3%)
<i>Hafnia alvei</i>	0	3	0	3 (5.0%)
<i>Proteus sp.</i>	0	4	0	4 (6.7%)
<i>Proteus mirabilis</i>	0	11	0	11 (18.3%)
<i>Proteus vulgaris</i>	0	4	0	4 (6.7%)
<i>Shigella sonnei</i>	0	1	0	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus albus coagulasa (-)</i>	0	0	1	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus sp.</i>	0	0	1	1 (1.7%)
Total	28	30	2	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

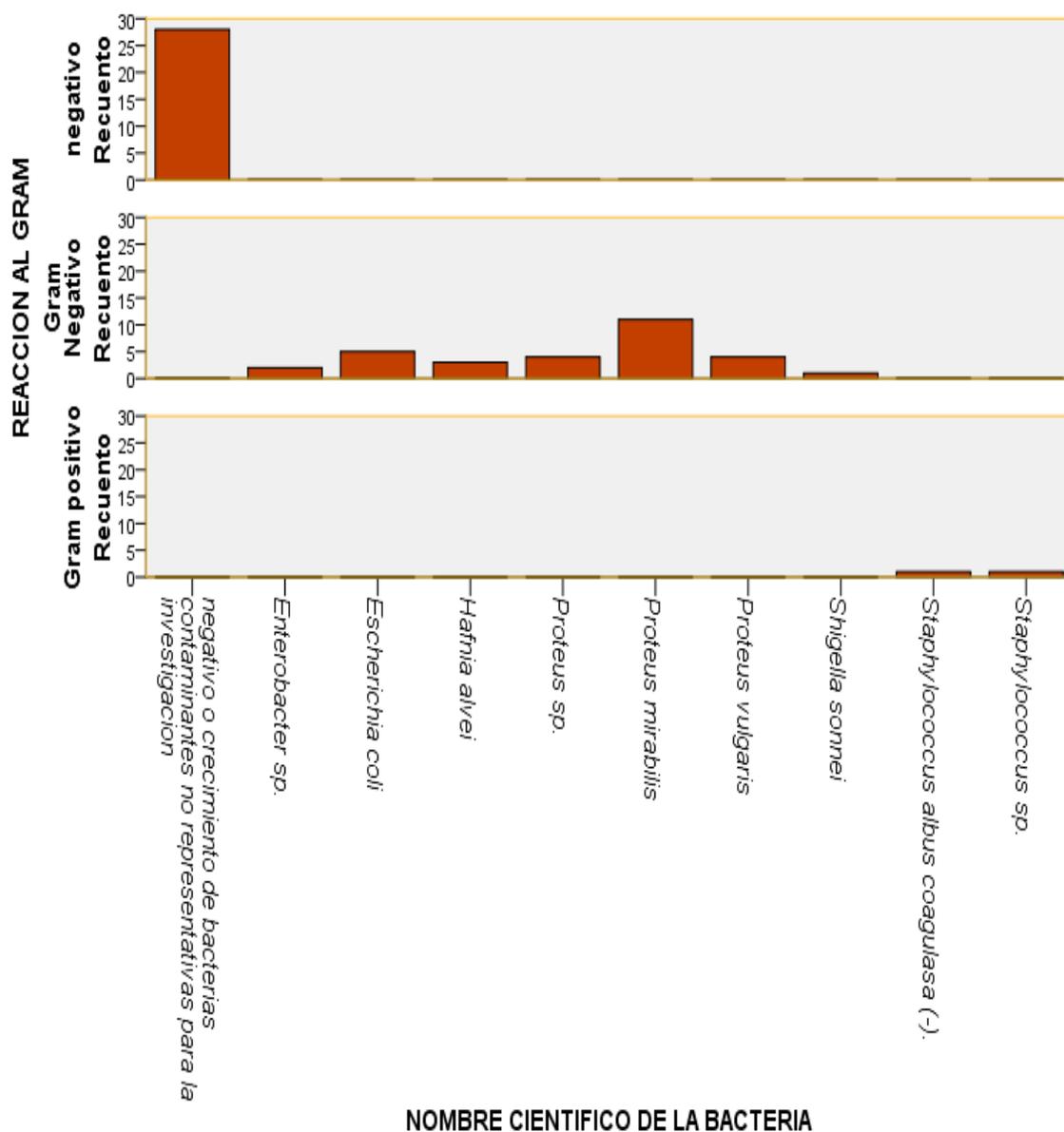


Figura 39. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con la reacción al Gram.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 9 tipos de bacterias clasificándose con respecto a su reacción al gram como 7 tipos gram negativos (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Hafnia alvei*, *Proteus* sp, *Proteus mirabilis*, *Proteus*

vulgaris, y *Enterobacter sp.*) y 2 tipos gram positivos (*Staphylococcus albus coagulasa (-)* y *Staphylococcus sp.*).

Cuadro 24. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con su morfología microscópica.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA*MORFOLOGIA MICROSCOPICA				
Bacterias \ Morfologia	Negativo(*)	Bacilos	Cocos	N (%)
Negativo(*)	28	0	0	28 (46.7%)
Enterobacter sp.	0	2	0	2 (3.3%)
Escherichia coli	0	5	0	5 (8.3%)
Hafnia alvei	0	3	0	3 (5.0%)
Proteus sp.	0	4	0	4 (6.7%)
Proteus mirabilis	0	11	0	11 (18.3%)
Proteus vulgaris	0	4	0	4 (6.7%)
Shigella sonnei	0	1	0	1 (1.7%)
Staphylococcus albus coagulasa (-)	0	0	1	1 (1.7%)
Staphylococcus sp.	0	0	1	1 (1.7%)
Total	28	30	2	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

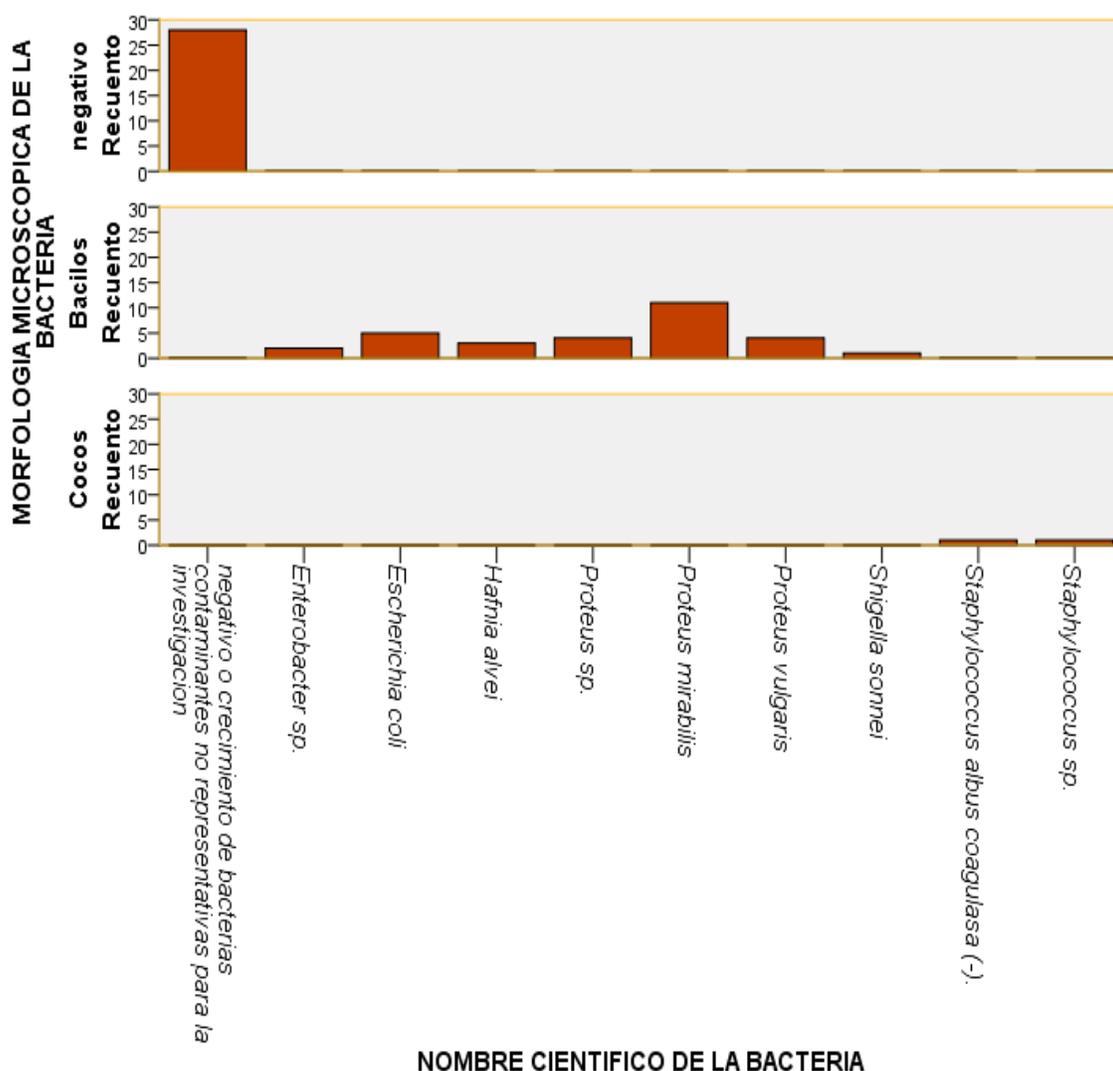


Figura 40. Gráfico análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con su morfología microscópica.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron 9 tipos de bacterias clasificándose con respecto a su morfología como 7 bacilos (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Hafnia alvei*, *Proteus sp*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, y *Enterobacter sp.*) y 2 cocos (*Staphylococcus albus coagulasa (-)* y *Staphylococcus sp.*).

Cuadro 25. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de las serpientes con el pH de cada uno de los ejemplares muestreados.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA SERPIENTE*Ph					
Serpientes \ pH	7	8	9	10	N (%)
<i>Lampropeltis triamgulum</i>	2	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Trimorphodon biscutatus</i>	2	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Leptodeira annulata</i>	2	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Pantheropsis guttatus</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Senticolis triaspis</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Lampropeltis getula</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Masticophis mentovarius</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Conophis lineatus</i>	0	0	1	0	1 (1.7%)
<i>Mastogodryas dorsalis</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Leptophis mexicanus</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python brongersmai</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Morelia spilota</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Python regius</i>	2	0	0	0	2 (3.3%)
<i>Boa constrictor</i>	0	32	5	0	37 (61.7%)
<i>Spilotes pullatus</i>	0	0	1	0	1 (1.7%)
<i>Python reticulatus</i>	0	0	1	0	1 (1.7%)
<i>Python molurus</i>	0	1	2	0	3 (5.0%)
<i>Eunectes notaeus</i>	0	0	0	1	1 (1.7%)
Total	15	34	10	1	60 (100%)

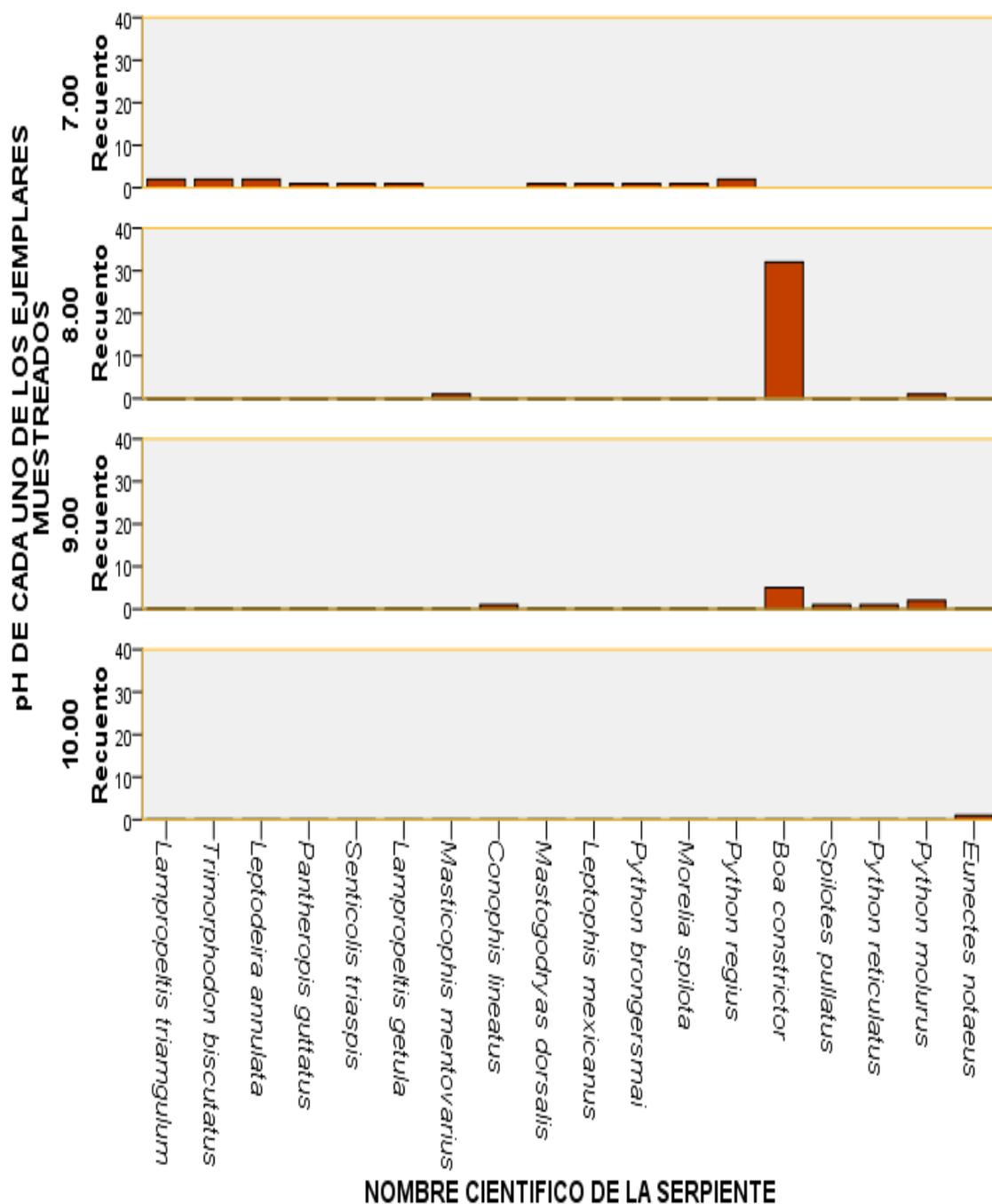


Figura 41. Grafica del análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de las serpientes con el pH de cada uno de los ejemplares muestreados.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron los

siguientes rangos de pH: 7 (*Lampropeltis triamgulum*, *Trimorphodon biscutatus*, *Leptodeira annulata*, *Pantheropis guttatus*, *Senticolis triaspis*, *Lampropeltis getula*, *Mastogodryas dorsalis*, *Leptophis mexicanus*, *Python brongersmai*, *Morelia spilota*, *Python regius*, *Conophis lineatus*), 8 (*Masticophis mentovarius*, *Boa constrictor*, *Python molurus* y *Boa constrictor*) 9 (*Eunectes notaeus*, *Python reticulatus*, *Boa constrictor*, *Spilotes pullatus*, *Python molurus*) 10 (*Python molurus*).

Cuadro 26. Análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el pH de cada uno de los ejemplares muestreados.

TABLA DE CONTINGENCIA NOMBRE CIENTIFICO DE LA BACTERIA*pH					
Bacterias \ pH	7	8	9	10	N (%)
Negativo(*)	10	16	2	0	28 (46.7%)
<i>Enterobacter sp.</i>	0	0	2	0	2 (3.3%)
<i>Escherichia coli</i>	4	1	0	0	5 (8.3%)
<i>Hafnia alvei</i>	0	2	1	0	3 (5.0%)
<i>Proteus sp.</i>	0	3	1	0	4 (6.7%)
<i>Proteus mirabilis</i>	0	9	2	0	11 (18.3%)
<i>Proteus vulgaris</i>	0	2	1	1	4 (6.7%)
<i>Shigella sonnei</i>	0	1	0	0	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus albus coagulasa (-)</i>	1	0	0	0	1 (1.7%)
<i>Staphylococcus sp.</i>	0	0	1	0	1 (1.7%)
Total	15	34	10	1	60 (100%)

(*) Negativo o crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación.

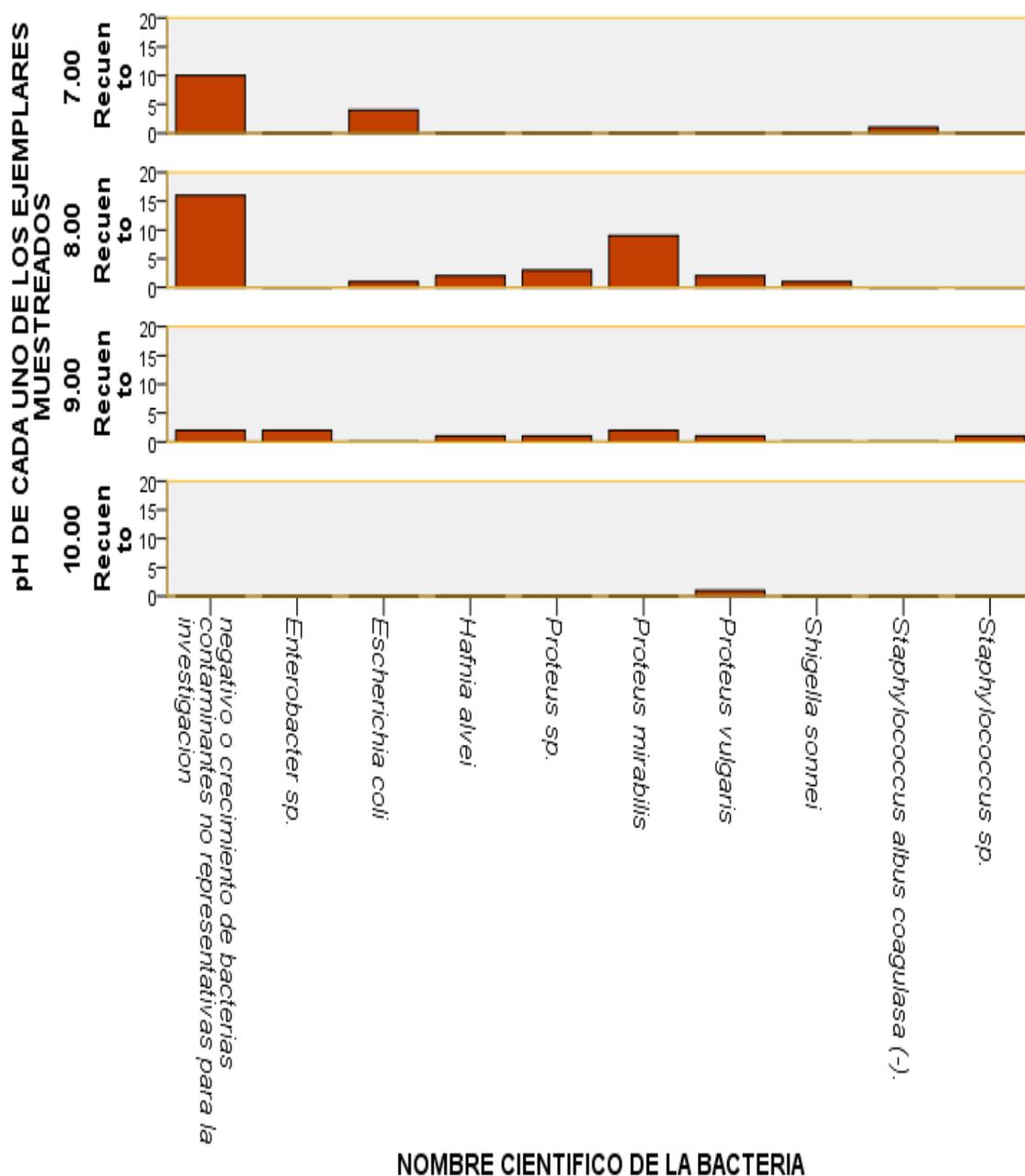


Figura 42. Gráfico de análisis descriptivo de doble entrada relacionando nombre científico de la bacteria con el pH de cada uno de los ejemplares muestreados.

Dentro de los resultados obtenidos en un total de 60 serpientes muestreadas de las familias Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador se encontraron las siguientes bacterias con respecto a cada uno de los tipos de pH: 28 resultados negativos pH 7 (4 *Escherichia coli*, 1 *Staphylococcus coagulasa* (-)), pH 8 (1 *E.coli*, 2 *Hafnia alvei*, 3

Proteus sp., 9 *Proteus mirabilis*, 2 *Proteus vulgaris* y 1 *Shigella sonnei*), pH 9 (2 *Enterobacter sp.*, 1 *Hafnia alvei*, 1 *Proteus sp.*, 2 *Proteus mirabilis*, 1 *Proteus vulgaris* y 1 *Staphylococcus sp.*, pH 10 (1 *Proteus vulgaris*).

7.2. Análisis de Multivariable.

Cuadro 27. Codificaciones de la variable dependiente y categórica.

Codificación de la variable dependiente											
Valor original						Valor interno					
NEGATIVO						0					
BACTERIAS PATOGENAS POR INMUNOSUPRECION.						1					
Codificaciones de variables categóricas (Variables independientes)											
		Frecuencia	Codificación de parámetros								
			(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
CLASIFICADAS SEGUN EL TIPO DE ALIMENTACION QUE RECIBEN	PEQUES DE RATON	10	1.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
	RATON	2	.000	1.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
	PINQUIS DE RATA	1	.000	.000	1.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000
	POLLITO Y RATA	11	.000	.000	.000	1.000	.000	.000	.000	.000	.000
	PELUDOS DE RATON	2	.000	.000	.000	.000	1.000	.000	.000	.000	.000
	LAGARTIJA Y RATON	1	.000	.000	.000	.000	.000	1.000	.000	.000	.000
	POLLITO Y RATON	27	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000	.000	.000
	CONEJO	1	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.00	.000
	RENACUAJO	2	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	1.000
RATA	3	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	
COMPONENTES DE AMBIENTACION DEL TERRARIO	PISO DE TIERRA Y TRONCOS	31	1.000	.000	.000						
	PISO DE CEMENTO Y TRONCOS	22	.000	1.000	.000						
	PISO DE TIERRA, TRONCOS Y PILETA DE AGUA	4	.000	.000	1.000						
	PISO DE CEMENTO, TRONCOS Y PILETA DE AGUA	3	.000	.000	.000						

Variables que no están en la en la ecuación			
Variables	Puntuación	GI	Sig.
LONGITUD	6.424	1	.011
SEXO	.097	1	.755
PESO	3.554	1	.059
DENTADURA	.030	1	.863
ALIMENTACION	17.904	9	.036
ALIMENTACION(1)	2.625	1	.105
ALIMENTACION(2)	2.365	1	.124
ALIMENTACION(3)	1.162	1	.281
ALIMENTACION(4)	4.391	1	.036
ALIMENTACION(5)	2.365	1	.124
ALIMENTACION(6)	1.162	1	.281
ALIMENTACION(7)	.043	1	.835
ALIMENTACION(8)	.890	1	.346
ALIMENTACION(9)	1.810	1	.178
TEMPERATURA	.027	1	.871
ILUMINACION	4.898	1	.027
COMPONENTES	8.595	3	.035
COMPONENTES(1)	5.511	1	.019
COMPONENTES(2)	3.077	1	.079
COMPONENTES(3)	3.750	1	.053

Cuadro 28. Pronostico del análisis Multivariable.

Observado		Pronosticado		
		¿Las variables independientes pueden afectar a la variable dependiente?		Porcentaje correcto
		NEGATIVO	BACTERIAS	
¿Las variables independientes pueden afectar a la variable dependiente?	NEGATIVO	26	2	92.9
	BACTERIAS PATOGENAS POR INMUNOSUPRECIION	10	22	68.8
Porcentaje global				80.0

Análisis:

El análisis Univariado, Bivariado y un ensayo Multivariable nos permite relacionar la variable dependiente en este caso las bacterias presentes en cavidad oral con sus covariantes o variables independientes las cuales influyen directamente alterando o modificando esta variable como son: longitud, sexo, peso, dentadura, alimentación, temperatura, iluminación y componentes o ambientación de los terrarios dándonos como resultado un 80% correcto esto quiere decir que todas la covariables relacionadas en la investigación afectan directamente las bacterias como parte de su flora bacteriana normal presentes en cavidad oral pudiéndose estas volverse patógenas para la salud de las serpientes del Parque Zoológico Nacional de El Salvador bajo condiciones de estrés o condiciones inapropiadas en cada terrario y a través del contacto desencadenar una zoonosis al ser humano.

7.3. Discusión de resultados

Como se presentan en los cuadros de análisis descriptivo, de las 60 serpientes muestreadas en el Parque Zoológico Nacional de El Salvador, se obtuvo un 46.7% de muestras negativas, es decir que no crecieron bacterias en las placas, crecieron bacterias contaminantes o no crecieron bacterias representativas, se encontró que un 53.3% dio positivo a crecimientos, las cuales fueron caracterizadas, encontrándose la presencia de: *Enterobacter sp.* (3.3%), *Escherichia coli* (8.3%), *Hafnia alvei* (5.0%), *Proteus sp.* (6.7%), *Proteus mirabilis* (18.3%), *Proteus vulgaris* (6.7%), *Shigella sonnei* (1.7%), *Staphylococcus albus coagulasa (-)* (1.7%) y *Staphylococcus sp.* (1.7%). Se encontró coincidencia con algunos resultados de investigaciones descritas en los antecedentes, de trabajos realizados a nivel mundial, sobre la flora bacteriana de la cavidad oral de serpientes. La familia Boidae mostro más diversidad de géneros y especies bacterianas (*Enterobacter* (3.3%), *Escherichia* (3.32%), *Hafnia* (5.0%), *Proteus* (31.7%), *Shigella* (1.7%) y *Staphylococcus* (1.6%)); en comparación con la Colubridae (*Escherichia* (4.98%) y *Staphylococcus* (1.6%)).

Se ha relacionado, la teoría que describe y clasifica las bacterias zoonóticas con los resultados obtenidos; encontrándose que un 10% de las bacterias con crecimiento representativo, se consideran patógenas para los seres humanos. Siendo la *E. coli* en un 8.3% y la *Shiguella sonnei* en un 1.7%, ésta última causante de disentería bacilar en humanos.

Las 16 hembras de la población de serpientes no presentaron crecimientos de *Proteus vulgaris*, *S. sonnei*, o bacterias del género *Staphylococcus*; y en los 44 machos de los ofidios el género de la bacteria *Enterobacter* no fue aislado. En algunos de los datos como el peso y alimentación, se han encontrado coincidencias en cuanto a las boas constrictoras. Estas se encuentran en el clase #1 del pesaje (li2.00-ls1761.60), que parte desde las serpientes que pesan desde 2 onzas hasta aquellas que alcanzan las 1761.60; de manera que también se determinó dentro de este rango, un mayor crecimiento bacteriano del genero *Proteus*.

La dentadura también presenta datos importantes; de 60 serpientes muestreadas, un 90% presenta dentición aglifa y solo un 10% dentición opistoglifa. En el primer tipo de dentadura, se aislaron todos los géneros y especies de bacterias caracterizadas, la familia que presenta esta dentición es la Boidae. En los ejemplares con dentadura opistoglifa, únicamente se aisló *E. coli*. Según datos bibliográficos, se sugiere que la alimentación juega un papel importante en la flora bacteriana de la cavidad oral. El alimento ofrecido en el herpetario, arroja que del 100% de la población de serpientes en estudio; el 16.7% se alimenta de peques de rata, un 3.3% de ratón, 1.7% de pinquis de rata, 18.3% de pollo de 1 día y rata, 3.3% de peludos de rata; 1.7% de lagartija y ratón, 45.0% de pollo de 1 día y ratón, 1.7% de conejo, 3.3% de renacuajo y 5.0% de rata.

Presentaron mayor diversidad de bacterias, aquellos ejemplares alimentados con pollo de 1 día y ratón; en este grupo se encuentran las *Boa constrictor* y *Phyton reticulatus*, seguido del grupo de serpientes (*Boa constrictor*, *Masticophis mentovarius* y *Spilotes pullatus*), que son alimentadas con pollo de 1 día y rata. Siendo el alimento pollo de 1 día, en el que ambos datos coinciden. De aquellos ejemplares que son alimentados con pinquis de rata, ratón, peludos de rata, lagartija y ratón no se aislaron bacterias, clasificando sus resultados como negativos.

En cuanto al terrario, las temperaturas rondan los 24 °C, 25 °C, 26 °C y 27 °C., evidenciando que entre temperaturas de 25 °C y 26 °C se encuentran un 85% de los ejemplares. Bajo este rango de temperatura, se encontró que hay mayor porcentaje y diversidad de crecimiento bacteriano.

En uno de los terrarios con el mayor número de serpientes (9 ejemplares y 21 ejemplares), se encontró poca diversidad de bacterias, pero altos porcentajes de crecimientos de bacterias del género *Proteus*, el cual es asociado con estomatitis en serpientes. También se observó, que existe una relación estrecha de esta bacteria, con las boas constrictoras.

Otras variables observadas en los terrarios, es la iluminación; observándose que el 93.3% de los terrarios tienen luz natural y el 6.7% artificial; siendo en el primer grupo donde se presentaron más crecimientos bacterianos. Así también aquellos pisos que son de cemento y troncos han mostrando, más diversidad de crecimientos (*Escherichia coli*, *Proteus sp*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Hafnia alvei*, *Staphylococcus albus coagulasa* (-), *Staphylococcus sp*); pero es en los pisos de tierra y troncos, donde se destacan mayores porcentajes de crecimientos del género *Proteus* y de *Escherichia coli*.

En cuanto a las condiciones de oxígeno de los crecimientos bacterianos, las bacterias aerobias presentan más diversidad que las anaerobias. Encontrándose *Escherichia coli* en las especies de serpientes: *Trimorphodum biscutatus*, *Python regius*, *Boa constrictor*, *Leptodeira annulata*; *Staphylococcus albus coagulasa* (-), en *Pantheropis guttatus*; *Shigella sonnei* en *Boa constrictor*; *Hafnia alvei* en *Boa constrictor* y *Python reticulatus*; *Staphylococcus sp.* en *Spilotes pullatus*; y *Enterobacter sp.* en *Python molurus*. Las bacterias anaerobias aisladas se clasifican como facultativas, ya que fueron aisladas bajo las condiciones mencionadas pueden o no crecen en presencia de oxígeno; identificándose, solo el género *Proteus sp.* el cual se aisló de *Boa constrictor* y *Python molurus*; *Proteus mirabilis*, de *Boa constrictor*; *Proteus vulgaris*, de *Boa constrictor*, *Python molurus* y *Eunectes notaeus*.

Un dato incorporado en la metodología de campo, fue la toma de pH de saliva, los cuales arrojaron que los rangos de pH con más frecuencia son, entre 8 y 9. Los resultados mostraron que en un rango de pH de 7, las bacterias que se aislaron fueron resultados Negativos es decir hubo crecimiento de bacterias contaminantes no representativas para la investigación, y *Escherichia coli* con *Staphylococcus albus coagulasa* (-), para pH 8 , arrojó bacterias contaminantes, en pH de 9, *Hafnia alvei*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus sp.*

8. CONCLUSIONES

1. Se determinó la presencia de nueve tipos de bacterias, pertenecientes a las familias *Enterobacteriaceae* y *Staphylococcaceae*, presentes en cavidad oral de las serpientes de la familia Boidae y Colubridae.
2. Las bacterias caracterizadas de acuerdo a su género y especie fueron: *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Hafnia alvei*, *Proteus sp.*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter sp.* todos estos de la familia *Enterobacteriaceae*. y *Staphylococcus albus coagulasa negativo* y *Staphylococcus sp.* de la familia *Estaphylococcaceae*.
3. Las bacterias clasificadas de carácter zoonótico son *Shigella sonnei*, la cual se encontró en la serpiente *Boa constrictor* y *Escherichia coli* en las serpientes *Lampropeltis triangulum* (falso coral), *Trimorphodon biscutatus* (lira), *Phyton regius* (pitón real) y *Boa constrictor*.
4. Se compararon los géneros de bacterias identificadas de la familia Boidae, encontrándose una flora bacteriana oral más variada respecto a la familia Colubridae.

9. RECOMENDACIONES

1. Es necesario mejorar la higiene en cada terrario de las serpientes, para evitar que vectores como cucarachas, contaminen los alimentos, el agua y el terrario; generando enfermedades. Una forma de eliminar esta plaga es implementando planes de fumigaciones con alfacipermetrina por ejemplo, para eliminar formas adultas e inmaduras; retirando o destruyendo si se observan oothecas o huevos de las cucarachas.
2. Al personal que está en contacto con las serpientes, se les recomienda utilizar una vestimenta adecuada, y luego de manipularlas, realizarse una limpieza profunda desde las manos hasta los codos, para eliminar cualquier tipo de bacteria que pueda producirles una zoonosis.
3. Al personal que presente heridas en áreas expuestas del cuerpo no deben manipular los ejemplares.
4. A las autoridades del Parque Zoológico Nacional de El Salvador, se les, exhorta a mejorar la ambientación del Herpetario e implementar un plan efectivo nutricional y de salud, de acuerdo a las necesidades de los ejemplares.
5. Se invita a docentes, investigadores y estudiantes a que continúen con este tipo de estudios en especies silvestres, para aprender sobre enfermedades, nutrición, bioseguridad, comportamiento en cautiverio, etc; trabajando en conjunto con entidades nacionales o privadas, con el fin de ampliar los conocimientos relacionados con estos ejemplares.
6. Implementar medidas preventivas, para evitar el contagio de enfermedades zoonóticas al personal encargado y a la población en general, que se mantienen contacto con estas especies.
7. Se recomienda realizar esta investigación con boas, pitones y colúbridos que habiten libremente en El Salvador, para comparar si se presenta la misma flora bacteriana.
8. Los Laboratorios Clínicos especializados en Medicina Veterinaria, deberían ampliar sus servicios con animales no tradicionales.

9. Los investigadores deberían realizar estudios más profundos sobre bacterias de interés en salud pública, como en el caso de la *Escherichia coli*, llegando a identificar los diferentes serotipos que pudieran presentarse de esta bacteria.
10. A las autoridades del Parque Zoológico Nacional de El Salvador, regular el flujo de personas que visitan el herpetario, porque de esta manera se disminuiría el estrés en los reptiles causado por el exceso de personas; estableciendo horas apropiadas para realizar los recorridos.
11. Coordinar o realizar en conjunto con la facultad de Medicina de la Universidad de El Salvador, el Ministerio de Agricultura y Ganadería, Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales y el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, este tipo de investigaciones.

10. BIBLIOGRAFIA

1. Acha, P. Szyfres, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes del hombre y animales. 3 ed. OPS (Organización Panamericana de la Salud). Washington D.C. vol. 1.
2. Arroyo, O. Bolaños, R. 1980. Thebacterial floral of venoms and mouth cavities de Costa Rica snakes. Bull Pan Am Health Organ. Consultado 18 de nov. 2012. Disponible en <http://hist.library.paho.org/English/BUL/ev14n3p280.pdf>
3. Ayerbe, S. Henao, E. 2004. Caracterización de la flora bacteriana patógena, presente en la cavidad bucal de víboras en el serpentario del museo de historia natural de la Universidad del Cauca. Consultado 20 nov. 2012. Disponible en: <http://www.facultadsalud.unicauca.edu.co/fcs/2005/marzo/CARACTERIZACION%20FLORA%20BACTERIANA.pdf>
4. Barragan F, KB. 2002. Enfermedades de Reptiles y Anfibios. Boletín GEAS 3(2):18-27.
5. Blandón Marín, G. 2009. Flora bacteriana asociada a la cavidad bucal en serpientes de la familia Viperidae. Tesis. Lic. Bio. Manizales. CO. UCALDAS. 33 p.
6. Blaylock, R. 2001. Normal oral bacterial flora from some southern African Snakes. In Onderstepoort Journal of Veterinarian research. África. p. 175-182.
7. Bonilla, G. 1995. Estadística I: Elementos de estadística descriptiva y probabilidad. 2 ed. UCA editores. San Salvador. SV. V.20, 558 p.
8. Brooks, GF; Butel, JS; Morse, SA. 2002. Microbiología medica de Jawtz, Melnick y Adelberg. Trad. I Naget. 17 ed. s.I. (sin lugar). Editorial manual moderno. 243-283 p.
9. Brooks, GF; Butel, JS; Morse, SA. 2011. Microbiología medica de Jawtz, Melnick y Adelberg. Trad. I Naget. 25 ed. s.I. (sin lugar). Editorial manual moderno. 231-329 p. Consultado 25 oct. 2013. Disponible en: <http://www.slideshare.net/josaet/microbiologia-medica-jawetz-25-edicion>

10. Carriquiriborde, M. 2010. Temas de Zoonosis: Enfermedades asociadas a reptiles (en línea). Consultado 18 oct. 2012. Disponible en: <http://www.veterinariargentina.com/revista/2010/07/temas-de-zoonosis-iv-capitulo-48-enfermedades-zoonoticas-asociadas-a-reptiles/>
11. Castellón, C. 2013. Metodologías estadísticas descriptivas (entrevista). San Salvador, SV. Universidad de El Salvador.
12. Ferreira Junior, R. Siqueira, A. 2009. Comparison of wildlife and captivity rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) microbiota. In Ferreira Junior, R. Siqueira, A. Campagner, M. eds. Pesq. Vet. Brazil p.999-1003
13. Folch, A. 2004. Zoonosis y otros problemas para la salud publica causados por reptiles (en línea). Consultado el 05 de marzo. 2013. Disponible en <http://www.faunaexotica.net/articulo/3/Zoonosis-y-otros-problemas-para-la-salud-publica-causados-por-reptiles>.
14. Fuentes Campos, KD. 2011. Determinación de la flora bacteriana normal y su sensibilidad antibiótica en la tráquea de serpientes pertenecientes a la colección de reptiles del Parque Zoológico Nacional de El Salvador. Tesis Med. Vet. Zoo. USAM. San Salvador, SV.
15. García, T. 2013. Metodologías de la investigación (entrevista). San Salvador, SV. Universidad de El Salvador.
16. Gini. G. Manual de procedimientos para la identificación de las bacterias con importancia clínica. 3 ed. 1995. Universidad San Carlos. Guatemala.
17. Henríquez, V. 2013. Investigaciones sobre serpientes en El Salvador (entrevista). San Salvador. SV. Universidad de El Salvador
18. Jepson, L. 2011. Medicina de animales exóticos: Guía de referencia rápida. Elsevier Saunders. Barcelona, ES. p.315-357.
19. Köhler, G. 2001. Reptiles de Centroamérica. Ediciones Herpeton. Alemania. 367 p.

20. Köhler, G. Veselý, M. Greenbaum, E. 2006. The amphibians and reptiles of El Salvador. Krieger Publishing Company. Malabar, Florida. 238 p.
21. Manual para el mantenimiento de serpientes: alimentación forzada. Cuetzpalin. México.
22. Martínez Umaña. 2012. Información referente al Herpetario y Parque Zoológico Nacional de El Salvador (asesoría) San Salvador, SV. Parque Zoológico Nacional.
23. Meredith, A. Redrobe, S. 2012. Manual de Animales Exóticos. Trad. López Olvera, JR. Ediciones Lexus. 4 ed. Barcelona, ES. 434 p.
24. Morales, S. Silva, W. Rojas, G. 2012. Flora bacteriana normal de la cavidad oral de boas mantenidas en cautiverio en Lima-Perú (en línea). Consultado 20 oct. 2013. http://cientifica.edu.pe/_data/archivos/Investigaciones/Flora_Bacteriana_Normal_de_la_cavidad_Oral_de_Boas_Mantenidas_en_Cautiverio_en_Lima_Peru.pdf
25. Ñanculef, R. Universidad Técnica Federico Santa María. 2009. Estadística descriptiva. 3. Análisis Bivariado. Chile. 66 diapositivas.
26. O'Malley. B. 2005. Anatomía y fisiología clínica de animales exóticos: Estructura y función de mamíferos, aves y reptiles. SERVET. Zaragoza, ES. p.99-117
27. Pelczar. M. Reid. R. 1982. Microbiología. 4 ed. McGraw-Hill. Ciudad Juárez. MX. p.65-70, 95-99, 117-128.
28. Pérez. AV. 2012. Metodologías para caracterización de bacterias (asesoría) San Salvador, SV. Universidad de El Salvador
29. Prescott, HK. 2004. Microbiología. 5 ed. McGraw-Hill. España.1240 p.
30. Skoczylas, R. 1970. Salivary and gastric juice secretion in the grass snake, *Natrix L.* trad. K Przedmiescie. Ed. Rev. s.I. (sin lugar). Elsevier. 35 v. 885–888 p.

31. Torres. M. 1996. Manual de práctica de bacteriología médica. 2 ed. Editoriales Serviprensa. Guatemala, GT. p.35-37, 193-199.
32. Universidad de El Salvador, UES 2012. Manual de Laboratorio y Programa de Microbiología y Parasitología Médica.
33. Universidad de El Salvador. UES 2012. Programa y Manual de prácticas de Laboratorio. Diagnóstico Bacteriológico.
34. Universidad de El Salvador. UES. 2011. Programa y Manual de prácticas de Laboratorio. Microbiología y Parasitología Médica.
35. Villalobos, J. 2008. El envenenamiento ofídico en animales del continente americano: serpientes, venenos, patología y tratamiento. Litografía San Rafael. Heredia, CR. p.21-29.
36. Yarto. 2011. Alojamiento y problemas relacionados en reptiles: quemaduras, problemas digestivos y respiratorios. Yarto. E. IMFAC. 11 p.

11. ANEXOS

Anexo A- 1: Macha de laboratorio para caracterización de bacterias de la cavidad oral en serpientes de la familia Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador

Introducción

Para demostrar la presencia de bacterias en la cavidad oral de la población de las serpientes en estudio se realizaron cultivos y procedimientos especiales adaptados a su forma de crecimiento. Las características macroscópicas obtenidas se desarrollaron por los crecimientos bacterianos como: tamaño, forma, tipo de agrupación, entre otros, siendo relacionadas con el género.

A partir de los cultivos se realizaron frotis y tinciones de Gram que permitieron determinar la morfología microscópica, agrupación y reacción al Gram de las bacterias; además la aplicación de pruebas fisiológicas y bioquímicas que ayudaron a la identificación de las mismas. De las cuales los resultados se relacionaron y caracterizaron con las bacterias que se obtuvieron a partir de los cultivos.

La siguiente técnica fue adaptada del Manual para el mantenimiento de serpientes, anexo II: Alimentación forzada (México DF), asesoría de la Licenciada en Biología Esmeralda Martínez encargada del herpetario del Parque Zoológico Nacional de El Salvador.

1. Toma de muestra de cavidad oral de las serpientes a través de hisopado oral

Para la toma de muestra se realizó el siguiente procedimiento:

- a) Se sujetó a la serpiente de manera que los manipuladores se encontraran cómodos y firmes.
- b) La persona que ayudo a la toma de muestra de la cavidad oral de las serpientes la manipulo adecuadamente, con el cuidado de no lastimarlas, para evitar movimientos bruscos y repentinos.
- c) Suavemente y sin intentar forzar la apertura de la cavidad oral, se colocó una pinza para alimentación en posición horizontal frente a esta, ejerciendo una ligera presión sobre la región donde la serpiente saca la lengua, se aguardó a que la serpiente relajara la cavidad y abriera por sí sola. Una vez dentro, se guio lateralmente la pinza a las mandíbulas, para mantenerla abierta.

- d) Se realizó la toma de la muestra, frotando con uno de los hisopos estériles delicadamente y con firmeza el interior de la mucosa oral durante algunos segundos, girándolo y moviéndolo para abarcar mayor superficie, asegurándose de esta manera que las bacterias quedaran adheridas a la superficie del hisopo. Se evitó el contacto a la hora de la toma de la muestra con la dentadura y la lengua del espécimen. Este mismo procedimiento se repitió para tomar la muestra y cultivarla en condiciones anaerobias.

Los procedimientos siguientes fueron adaptados del Manual de laboratorio y Programa de Microbiología y Parasitología Médica del Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina -Universidad de El Salvador, Manual Práctico de Bacteriología Medica, Torres. M. 2 ed. y del Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias de la Universidad Nacional Autónoma de México.

1.1. Medición de pH

- a) Se colocó una tira reactiva en la cavidad oral para la medición de este.

2. Procedimiento para realizar el Frotis directo y coloración de Gram a partir de hisopado oral. (Universidad de El Salvador, Facultad de Medicina 2012)

2.1 Técnica para realizar frotis directo a partir de hisopado de cavidad oral de serpientes.

- a) Se colocó a partir del hisopado realizado una muestra en un portaobjetos.
 b) Se extendió la muestra de manera que este cubriera aproximadamente 1 cm. de diámetro de superficie.
 c) Se dejó secar a temperatura ambiente durante 5 minutos. Una vez seco, se flameo ligeramente la parte inferior del mismo pasándolo sobre la llama del mechero.
 d) Se colocó en una bandeja laminar.
 e) Se coloreo con Gram.

Fundamento y procedimiento para tinción de Gram

Las bacterias fijadas al portaobjeto por el calor fueron teñidas con un colorante básico (cristal violeta o violeta de genciana) el que es captado en forma similar por todas las bacterias. Luego se aplicó una solución de yodo o lugol, que actúo como mordiente (fijación) del cristal violeta. En este momento del proceso, todas las bacterias se tiñeron de violeta.

Posteriormente, las bacterias son tratadas con una mezcla de alcohol-acetona (70:30) para la decoloración del frotis. Las bacterias grampositivas retuvieron el complejo cristal violeta-lugol, permaneciendo de color violeta; las gramnegativas se decoloraron completamente por el alcohol-acetona.

Por último se aplicó safranina, que es un colorante rojo; de esta manera, las bacterias gramnegativas, previamente decoloradas, tomaron el color de la safranina (rojo).

- a) Se cubrió el frotis con cristal violeta y se mantuvo así durante un minuto, posteriormente se decantó el colorante.
- b) Se lavó el exceso con agua corriente del grifo, usando un frasco lavador y se escurrió.
- c) Posteriormente fue cubierto con solución de Lugol para Gram durante un minuto.
- d) Se decantó el reactivo, lavo el exceso con agua y se dejó escurrir.
- e) Se inclinó la lámina para eliminar el Lugol para Gram y por goteo, se comenzó a decolorar el frotis con alcohol-cetona por 10 a 20 segundos. La decoloración ocurrió cuando el solvente fluyo incoloro de la lámina.
- f) El frotis se lavó rápidamente con agua de chorro procurando que esta deslizara suavemente sobre la superficie del extendido, esto evito la excesiva decoloración o la remoción completa del complejo cristal violeta-lugol de aquellas bacterias que eran grampositivas.
- g) Se procedió a cubrir la preparación con solución de safranina durante 30 segundos.
- h) Se decantó el colorante, luego se lavó con agua de chorro y dejó escurrir.
- i) Se secó cuidadosamente con papel toalla la preparación.
- j) Se procedió a observar al microscopio compuesto o de luz clara bajo el objetivo de inmersión.

3. Procedimientos para aislar bacterias aerobias a partir de hisopado de cavidad oral de serpientes.

Las bacterias aerobias forman parte de un tipo de microorganismo eucariotas que necesitan de un ambiente que contenga oxígeno biatómico (un gas compuesto por dos átomos de oxígeno) para poder existir y desarrollarse adecuadamente, es decir, éstas bacterias necesitan oxígeno para su respiración celular.

3.1. Inoculación y siembra inicial de hisopado oral de la serpiente en medio de cultivo Agar Sangre.

- a) Se realizó el hisopado en la cavidad oral de la serpiente y luego se procedió a inocular la placa de Agar Sangre con el mismo frotando este en uno de los extremos de la superficie de la placa.
- b) Se sembró el resto de la superficie de la placa por el método de estrías.
- c) Se rotulo la base de la placa e incubo a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ en atmósfera de 5-10% con CO_2 y humedad por un tiempo entre 18-24 horas.
- d) Pasado el tiempo de incubación se retiró la placa y finalmente se procedió a la lectura e interpretación macroscópica del crecimiento bacteriano.

3.2. Inoculación y siembra de hisopado oral de las serpientes en medio de cultivo Agar MacConkey.

- a) Al igual que en el medio anterior se inoculó con el mismo hisopo en este agar y posteriormente se sembró por el método de estrías sobre la superficie de la placa que contenía el Agar MacConkey
- b) Se rotulo la base de la placa e incubo a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por un tiempo entre 18-24 horas.
- c) Pasado el tiempo de incubación se retiró la placa y finalmente se procedió a la lectura e interpretación macroscópica del crecimiento bacteriano.

4. Identificación Macroscópica de colonias bacterianas a partir de medios de cultivo Agar Sangre y Agar MacConkey.

Después de la siembra del medio de cultivo y después de la incubación, se pudo determinar las características de cultivo del microorganismo que creció en él, observando su apariencia. Para la identificación de las colonias de bacterias se observaron las siguientes características:

- a) Tamaño: se observó si eran pequeñas, grandes, medianas o si crecieron en todo el agar.
- b) Margen o borde: se observaron los bordes para determinar si formaban círculos perfectos o irregularidades como salientes, redondos, hendiduras irregulares, proyecciones filiformes o proyecciones en forma de raíz

- c) Elevación: se observaron las colonias determinando si eran muy finas (aplanadas) o gruesas (elevadas).
- d) Cromogénesis o pigmentación: se observaron las colonias en busca de coloraciones o pigmentaciones, sin color o no pigmentadas.
- e) Características ópticas: se observó si se mostraban opacas, transparentes u opalescentes.

Características generales como presencia de alfa o beta hemolisis, y aun el olor del cultivo ayudaron para la identificación.

Para la realización del frotis se desarrollaron los siguientes pasos:

4.1. Preparación de un frotis bacteriano a partir de medio sólido:

- a) Se tomó un asa bacteriológica, se esterilizo en la llama del mechero y se dejó enfriar alrededor de esta área.
- b) Se tomó un tubo que contenía solución salina 0.85% estéril, se destapo y flameo ligeramente la boca del tubo.
- c) Se introdujo el asa previamente esterilizada y se retiró sin tocar la pared interna del tubo una asada de esta solución.
- d) Se flameo nuevamente la boca del tubo, se tapó y coloco en una gradilla.
- e) Se depositó la cantidad de solución salina al 0.85% que traía el asa en el centro de la superficie de un portaobjetos limpio y previamente desengrasado e identificado.
- f) Cerca del área del mechero y con el asa estéril, se obtuvo una pequeña porción de una de las colonias más representativas y predominantes del crecimiento, respectivamente en cada placa.
- g) La porción del cultivo que fue tomada en el paso anterior, se homogenizo con la solución salina depositada previamente en el portaobjeto, se extendió la muestra de manera que, el tamaño del extendido cubriera aproximadamente 1 cm. de diámetro en la superficie del portaobjeto.
- h) El asa utilizada se esterilizo.
- i) Se dejó secar el frotis a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos. Una vez seco se flameo ligeramente la parte inferior del mismo pasándolo sobre la llama del mechero de 2 a 3 veces.

- j) Se colocó el frotis en una bandeja para colorear y se realizó la tinción de Gram.
- k) Se repitieron los procesos anteriores con las demás colonias que se consideraron representativas
- l) Este procedimiento se realizó igualmente con las colonias de los crecimientos en agar MacConkey y sangre.

5. Identificación Microscópica de bacterias a partir de medios de cultivo Agar Sangre y Agar MacConkey.

Para la realización de la tinción de Gram se utilizó como referencias los parámetros de preparación de un frotis a partir de los medios sólidos anteriormente descritos.

6. Identificación de bacterias Gram positivas

A partir de los resultados obtenidos en la identificación microscópica de las bacterias, que provinieron de los medios de cultivo utilizados para el aislamiento de estas en la cavidad oral de las serpientes de las familias Boidae y Colubridae y también tomando en cuenta las características macroscópicas de las colonias que se formaron, se pudo realizar una identificación un poco más precisa de bacterias Grampositivas, mediante las siguientes pruebas:

6.1. Prueba de la Catalasa

Fundamento de la Prueba de Catalasa

La prueba de la catalasa es utilizada para la identificación de muchas bacterias, como por ejemplo *Staphylococcus*. La enzima catalasa producida por estos microorganismos, cataliza la liberación de agua y oxígeno a partir del peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Esta prueba es útil para diferenciar las bacterias que provienen del género *Staphylococcus* de entre el género *Streptococcus*, ya que estos últimos no poseen la enzima catalasa.

Procedimiento de la prueba de la catalasa para identificación de cocos Grampositivos:

- a) Se tomó un asa bacteriológica, se esterilizó con el mechero y se dejó enfriar.
- b) Con el asa ya esterilizada se tomó una pequeña cantidad de cultivo puro teniendo el cuidado de no remover parte del agar sangre, pues ello podía originar una reacción falsa positiva.
- c) La muestra tomada se depositó en un portaobjeto previamente seleccionado.

- d) Se colocó una gota de Peróxido de hidrogeno (H_2O_2) al 3% sobre la porción de cultivo del porta objeto.
- e) Se observó la reacción. Un burbujeo vigoroso indicaría si la reacción era positiva.

6.2. Prueba de Coagulasa

Fundamento de la Prueba de la Coagulasa

Esta prueba es utilizada para detectar la presencia de la enzima coagulasa producida por *Staphylococcus aureus*, la cual se realiza en tubo o en porta objeto.

La prueba en tubo detecta la presencia de coagulasa libre producida por *Staphylococcus aureus*, cuando esta bacteria es inoculada en plasma diluido 1:4 después de incubarla de 6-8 horas a $36 \pm 1^\circ C$. La formación de un coagulo de fibrina (fibrinógeno a fibrina) indica la presencia de la enzima. La prueba de coagulasa en lámina detecta la coagulasa unida a la bacteria (factor aglutinante). Su resultado es más rápido y consistente. Pero una prueba positiva debe confirmarse por la prueba en tubo.

Procedimiento de la prueba de Coagulasa en tubo:

- a) Se esterilizo el asa en el área del mechero, se tomó una asada bacteriológica del cultivo puro proveniente del agar sangre.
- b) Se deposito está en un tubo cuyo contenido fue plasma de humano diluido 1:4. Se mezcló el asa en el interior del tubo.
- c) Se rotulo y coloco el tubo en la incubadora a $36 \pm 1^\circ C$ por un periodo de 18-24 horas.
- d) Transcurrido el tiempo de incubación se retiró el tubo y se procedió a su lectura, inclinándolo suavemente. La presencia de un coágulo en el interior del tubo indico si fue una prueba positiva.

6.3. Aquellas colonias que presentaron hemolisis beta, se identificaron con la siguiente prueba:

6.4. Prueba de Taxo A o Bacitracina

Fundamento de la prueba de Bacitracina

La Bacitracina es un antibiótico que inhibe la síntesis de pared celular bacteriana, y a la concentración que se encuentra en los discos (0.04 U) inhibe el crecimiento de los

Streptococcus beta hemolíticos del grupo A de Lance Field pero no inhibe el desarrollo de otros *Streptococcus beta hemolíticos*. Los *Staphylococcus coagulasa* negativo son resistentes.

Procedimiento de la prueba de Taxo A:

- a) Se esterilizo y enfrió el asa, se tomó una asada del cultivo puro e inoculo en la superficie de una placa agar sangre.
- b) Luego con una pinza sin garra estéril y fría se colocó un disco de Taxo A
- c) Se rotulo adecuadamente e incubo la placa a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18-24 horas. Se colocó la placa en una campana enriquecida en una atmosfera de 5 a 10% de CO_2 .
- d) Transcurrido el tiempo de incubación se retiró la placa y se leyó. La inhibición de crecimiento de las colonias alrededor del disco de la Bacitracina indicaría si la prueba es positiva.

7. Identificación de bacterias Gram negativas.

Analizando el crecimiento bacteriano que se obtuvo en agar Sangre y MacConkey, para la identificación de este tipo de bacterias, se utilizó principalmente el crecimiento en agar MacConkey tomando en cuenta las características macroscópicas antes mencionadas y especialmente la fermentación o no de lactosa para alguna de ellas. Una vez identificadas microscópicamente las bacterias gramnegativas se procedió a la realización para la identificación de estas bacterias con las siguientes pruebas:

7.1. Tres azucares y hierro (TSI)

Fundamento de TSI

Cuando un bacilo entérico es inoculado e incubado bajo condiciones favorables de crecimiento, el TSI puede presentar diferentes aspectos que se pueden observar. Para ello en el tubo se leerá el bisel y el fondo, y se reportará en ese orden. Si el medio presenta un color amarillo debido a una fermentación, entonces se reporta como A (acido); y si presenta un color rojo se describe como alcalino (K).

Significado de posibles reacciones en el medio de TSI:

- a) Si todo el medio de cultivo es amarillo (A/A); significa que la bacteria inoculada, es capaz de producir cantidades suficientes de ácido a partir de la fermentación de los azucares, provocando con esto el viraje del indicador a color amarillo.

- b) Si el medio de cultivo se observa como en el paso anterior (A/A); pero además surge desplazamiento hacia arriba, separación, fraccionamiento del medio y presencia de pequeñas burbujas diseminadas; significa que la bacteria además de producir ácido, también produce gas CO₂.
- c) Si el medio de cultivo presenta bisel rosado y fondo amarillo (K/A); significa que la bacteria ha utilizado únicamente la glucosa bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas con poca producción de ácido para luego digerir la peptona y darle el aspecto rosado característico al bisel debido a la liberación de amoníaco que se produce (reacción alcalina).
- d) El fondo del tubo o en la parte del agar se puede mostrar un precipitado negro en grado variable, dependiendo de la bacteria inoculada. Significativo para distinguir a todas aquellas bacterias que producen H₂S (Sulfuro de hidrogeno), el cual se combina con el Fe, para formar un precipitado negro insoluble de Sulfuro de hierro (FeS₃), que es el compuesto que le suministra esa apariencia.
- e) Puede aparecer todo el medio de cultivo de color rosado (K/K); indicando que la bacteria inoculada carece de la capacidad de fermentar los azucares presentes en el medio de cultivo. Si se sabe cómo norma de que todas las enterobacterias fermentan la glucosa, esta reacción no es de una *Enterobacteriaceae* y debe de recurrirse a su estudio por otros métodos.

Procedimiento de la Prueba de TSI:

- a) Se procedió a esterilizar un alambre recto con el mechero y se dejó enfriar.
- b) Posteriormente se tomó una pequeña cantidad con el alambre del cultivo puro y se inoculo hasta llegar al fondo del tubo, seguidamente con el mismo alambre se estrió sobre la superficie del bisel que contenía este medio.
- c) El tubo se rotulo adecuadamente e incubo a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18-24 horas.
- d) Transcurrido el tiempo de incubación, se retiró el tubo y procedió a la lectura e interpretación del mismo.

7.2. Pruebas IMViC

Otros medios diferenciales que se utilizaron para la identificación de las bacterias Gram negativas fueron los siguientes:

7.2.1. Prueba de Rojo de Metilo

Fundamento de la prueba Rojo de Metilo

El rojo de metilo es un indicador ácido base que cambia a color rojo cuando el pH del medio de cultivo es próximo a 4.5. Hay bacterias que producen grandes cantidades de ácido y lo elaboran con suma facilidad a partir de su crecimiento en caldo glucosado; hay otras, que son poco productoras o no productoras de ácido a partir del mismo medio. La prueba del rojo de metilo sirve para hacer esta diferenciación o separación entre grandes y poco productores de ácido. Si la reacción es positiva aparece un color rojo en el medio de cultivo.

Procedimiento para realizar la prueba de RM:

- a) Se esterilizó e inoculó el tubo que contenía este caldo, con el cultivo.
- b) Se homogenizo el caldo con el asa bacteriológica.
- c) Se procedió a rotular adecuadamente e incubar por 18-24 horas a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- d) Transcurrido el tiempo de incubación se retiró el tubo con el crecimiento, y se procedió a mezclar vigorosamente.
- e) Inmediatamente se agregaron entre 5 a 10 gotas del indicador rojo de metileno, se mezcló y se observó la reacción.

7.2.2. Pruebas de Voges-Proskauer

Fundamento de la Prueba de Voges-Proskauer

Esta es una prueba de lectura indirecta, sirve para detectar la presencia o síntesis del acetil, metil carbinol (acetoina) a partir de un caldo glucosado con crecimiento de bacilos entéricos después de 18 a 24 horas de inoculación aerobia. La acetoina es un producto inmediato que se obtiene de la fermentación de 2,3 butilenglico. En presencia de oxígeno atmosférico y de KOH al 40%, la acetoina se convierte en diacetileno y el α naftol sirve como catalizador para formar un complejo color rojo. Si la prueba es positiva se observará la formación de un complejo de color rojo sobre la superficie del medio.

Procedimiento de la Prueba de Voges-Proskauer:

- a) Con un asa previamente esterilizada se inoculó el tubo que contenía este caldo, con el cultivo.
- b) Se homogenizo el caldo con el asa bacteriológica.

- c) Se procedió a rotular adecuadamente e incubó por 18-24 horas a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- d) Transcurrido el tiempo de incubación se retiró el tubo con el crecimiento.
- e) Se procedió a mezclar vigorosamente para resuspender su contenido. Con un gotero se depositó entre 8 a 10 gotas del reactivo alpha naftol sobre la superficie del caldo, se agito nuevamente.
- f) Posteriormente se depositó de 3 a 6 gotas de KOH al 40% se agito y dejo reposar el tubo destapado.
- g) Se esperó de entre 10 a 15 minutos para leer la prueba.

7.2.3. Prueba de Citrato.

Fundamento de la Prueba de Citrato

En esta prueba se determina el grado de utilización del sustrato (citrato sódico) incorporado al medio de cultivo. Algunas bacterias lo utilizan como única fuente de energía (carbono), cuando son inoculados en un medio de esta naturaleza produciendo alcalinidad. Si la reacción es positiva, el medio de cultivo mostrará crecimiento bacteriano y el color del indicador (azul de bromotimol) virará de verde a azul, de acuerdo a la intensidad con que la bacteria en el tubo haya utilizado el sustrato. Esta prueba es de lectura directa.

Procedimiento para la prueba de Citrato:

- a) Con un asa esterilizada, se tomó una asada de cultivo puro, posteriormente esta se cultivó sobre la superficie del bisel por el método de estriado.
- b) Se rotulo adecuadamente e incubo por 24-48 horas a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- c) Transcurrido el tiempo de incubación se retiró el tubo y se procedió a su lectura directa.

7.3. Urea

Fundamento de la prueba de la Urea:

Cuando una bacteria se inocula en un medio que contiene urea, esta sintetiza y libera la enzima ureasa, se producen sustancias alcalinas, las cuales se detectan con el indicador rojo fenol, virando el medio hacia un color rosado intenso que varía de acuerdo a la degradación que sufre el sustrato (urea). Esto es indicativo de reacción positiva. Este medio es de lectura directa.

Para el procedimiento se inocula y estría la superficie de un medio de agar de urea en tubo e incuba a 36°C por 24 horas. Si una prueba es positiva se manifiesta por el crecimiento en la superficie del medio y por un cambio de color del medio.

Procedimiento de la prueba de Urea:

- a) Con un asa esterilizada, se tomó una asada de cultivo, posteriormente esta se estrío sobre la superficie del bisel.
- b) Se rotuló adecuadamente e incubó por 24-48 horas a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- c) Transcurrido el tiempo de incubación se retiró el tubo y se procedió a su lectura directa.

7.4. MIO

El medio MIO se utiliza para la identificación de Enterobacterias sobre la base de movilidad, la producción de ornitina descarboxilasa y de Indol. En este medio se leen las reacciones de movilidad y de ornitina antes de agregar el reactivo de Kovacks para la prueba de Indol.

7.4.1. Movilidad

Fundamento para la prueba de movilidad

La movilidad es una propiedad característica de las bacterias flageladas. Si una bacteria móvil se inocula en un medio nutritivo semisólido (concentración baja de agar de 3.0%), esta podrá ser fácilmente detectada; porque el crecimiento se observa de manera difusa (turbio), proyectándose a partir de la estría realizada; indicativo de prueba positiva. Si la bacteria no es móvil, su crecimiento se limitara solo a la estría y se observará una línea vertical bien definida. Este medio es de lectura directa.

Procedimiento de la prueba de movilidad:

- a) Con un alambre esterilizado, se procedió a tomar una porción de cultivo puro, posteriormente se inoculó el medio de procurando realizar una punción hasta dos tercios del cultivo, sin llegar al fondo del tubo.
- b) Luego se rotuló el tubo adecuadamente e incubó por 18-24 horas a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- c) Transcurrido el tiempo de incubación se retiró el tubo y se procedió a su lectura directa.

7.4.2. Prueba de Indol

Fundamento de la prueba de Indol

La producción de Indol se da a partir de un caldo que contiene proteína digerida rica en triptófano por acción de bacterias que poseen la enzima triptófanasasa. Al agregar éter y mezclar vigorosamente, se le extrae el Indol al caldo y aparece junto con el éter como una capa incolora sobre la superficie del caldo. Si a esta se le agrega el respectivo reactivo o indicador, la capa incolora mostrara cambio a rosado intenso.

Procedimiento de la prueba de Indol:

- a) Se esterilizó e inoculó el tubo que contenía este caldo, con el cultivo.
- b) Se homogenizo el caldo con el asa bacteriológica.
- c) Se procedió a rotular adecuadamente e incubo por 18-24 horas a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- d) Transcurrido el tiempo de incubación, se resuspendió el contenido bacteriano dejándolo reposar brevemente y posteriormente se agregó aproximadamente 1 ml de éter etílico se mezcló vigorosamente, se dejó reposar para observar la reacción.
- e) Sin agitar ni mezclar se inclinó el tubo y se depositó aproximadamente de 5 a 10 gotas del reactivo de Kovacks o Erlich procurando que este se deslizara suavemente por la pared interna del tubo.
- f) Se procedió a observar la reacción.

7.4.3. Ornitina

Mide la capacidad enzimática de un organismo para descarboxilar un aminoácido (ornitina) para formar una amina, con la consiguiente alcalinidad. La descarboxilación es el proceso mediante el cual las bacterias que poseen enzimas descarboxilasas específicas son capaces de atacar a los aminoácidos en su grupo carboxilo dando una amina o una diamina y anhídrido carbónico. La descomposición de los aminoácidos se produce anaeróbicamente. El proceso de descarboxilación es irreversible, no oxidativo y requiere una coenzima común, el fosfato de piridoxal.

El aminoácido L-lisina sufre la descarboxilación para dar cadaverina y CO por acción de la enzima específica lisina-descarboxilasa. El aminoácido L-ornitina es descarboxilado por la enzima ornitina descarboxilasa para dar la diamina putrescina y CO₂ producidos en

condiciones anaerobias. La prueba será positiva si el medio se torna color púrpura y negativo si se da un posible color amarillo en el fondo del tubo que se torna púrpura al final.

Procedimiento de la prueba de Ornitina:

- a) Con un alambre esterilizado, se procedió a tomar una porción de cultivo puro, posteriormente se inoculó el medio.
- b) Luego se rotuló el tubo adecuadamente e incubó por 18-24 horas a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- c) Transcurrido el tiempo de incubación se retiró el tubo y se procedió a su lectura directa.

8. Aislamiento e identificación de bacterias anaerobias

Las bacterias anaerobias son aquellas que crecen en ausencia de oxígeno libre por lo que se pueden clasificar en: Anaerobios Facultativos las cuales no requieren oxígeno para crecer pero lo hacen mejor en su presencia, Anaerobios facultativos pueden crecer bien tanto en presencia como en ausencia del oxígeno y finalmente los Anaerobios estrictos u obligados ya que no toleran en lo absoluto el oxígeno y mueren en su presencia. (Prescott, 2004).

8.1. Inoculación y siembra de hisopado oral de la serpiente en medio de cultivo Agar Sangre.

- a) Con el hisopo se tomó la muestra en cavidad oral de las serpientes para bacterias anaerobias.
- b) Se inoculo cerca del mechero y se realizó una siembra en medio de cultivo Agar Sangre por el método de estriado.
- c) Se rotulo la placa adecuadamente en la base de la misma e introdujo en un ambiente anaerobio, para ello se utilizó la jarra y sobre de GasPack.
- d) Se procedió a incubar la jarra a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48-72 horas.
- e) Pasado el tiempo de incubación se retiró la jarra y saco la placa, se procedió a la lectura e interpretación del mismo.

Para la identificación de las bacterias más representativas que han crecido a partir de la siembra se realizó un frotis para su posterior tinción de Gram, para ello se procedió según los pasos explicados anteriormente. Así mismo los resultados de la tinción indicaron los pasos a seguir para la identificación de las bacterias.

Cuadro A- 1. Población de serpientes de la Familia Boidae y Colubridae del Parque Zoológico Nacional de El Salvador.

Inventario de serpientes de la familia Boidae y Colubridae hasta junio del 2012.				
ORDEN	FAMILIA	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO	No.
Squamata	Boidae	Anaconda amarilla	<i>Eunectes notaeus</i>	1
		Masacuata	<i>Boa constrictor</i>	6
		Boa colombiana		9
		Boa Nicaragüense		22
		Pitón real	<i>Python regius</i>	2
		Pitón carpeta	<i>Morelia spilota</i>	1
		Pitón indio	<i>Python molurus</i>	3
		Pitón reticulado	<i>Python reticulatus</i>	1
		Pitón sangre	<i>Python brongersmai</i>	1
	Colubridae	Lira	<i>Trimorphodon biscutatus</i>	2
		Chichicúa	<i>Spilotes pullatus</i>	1
		Falso coral	<i>Lampropeltis triamgulum</i>	2
		Ratonera	<i>Senticolis triaspis</i>	1
		Serpiente de maíz	<i>Pantheropsis guttatus</i>	1
		Zumbadora de cola roja	<i>Masticophis mentovarius</i>	1
		Cotina	<i>Conophis lineatus</i>	1
		Serpiente rey	<i>Lampropeltis getula</i>	1
		Ranera o come ranas	<i>Leptodeira annulata</i>	2
		Lagartija lisa de montaña	<i>Mastigodryas dorsalis</i>	1
Bejuquilla	<i>Leptophis mexicanus</i>	1		
Total				60

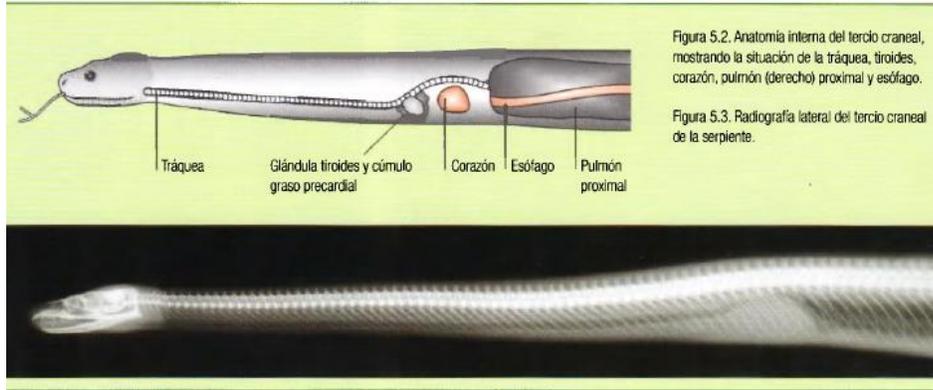


Figura A- 1. Anatomía y radiografía lateral interna del tercio craneal de una serpiente.

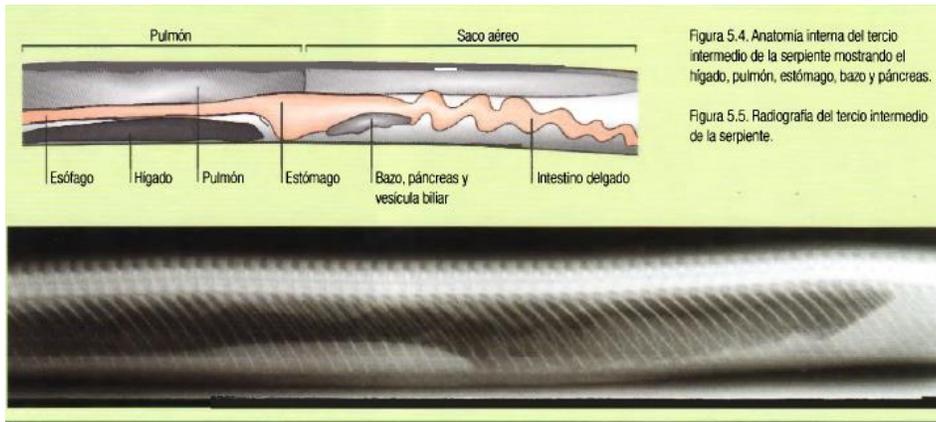


Figura A- 2. Anatomía y radiografía lateral interna del tercio intermedio de una serpiente.

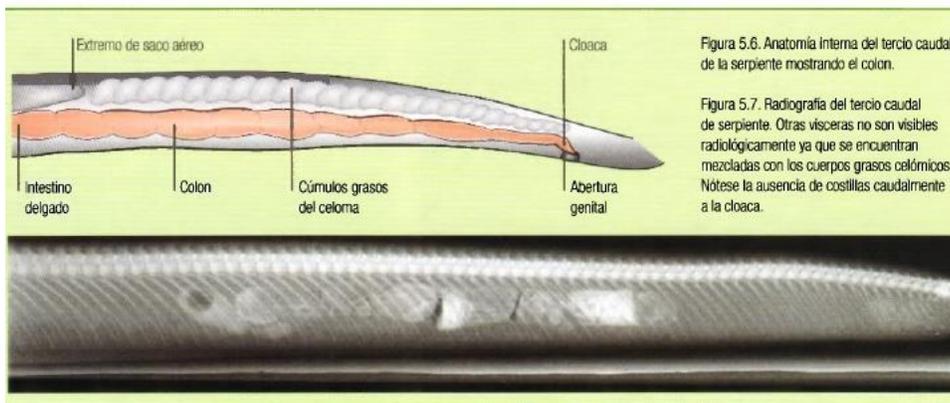


Figura A- 3. Anatomía y radiografía lateral interna del tercio caudal de una serpiente.

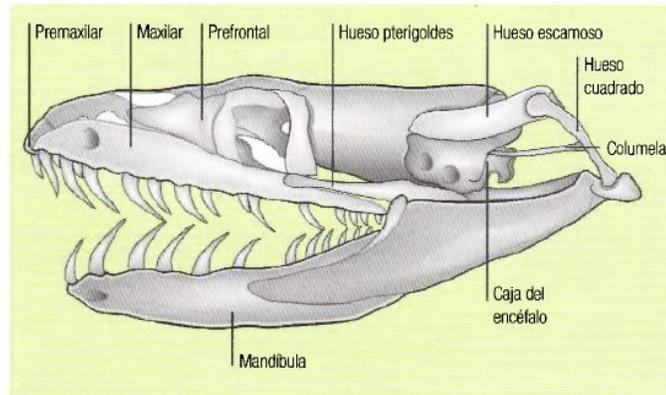


Figura 5.10. Cráneo de una serpiente simple.

Figura A- 4. Cráneo de una serpiente no venenosa donde se muestra la articulación del hueso cuadrado con la mandíbula.

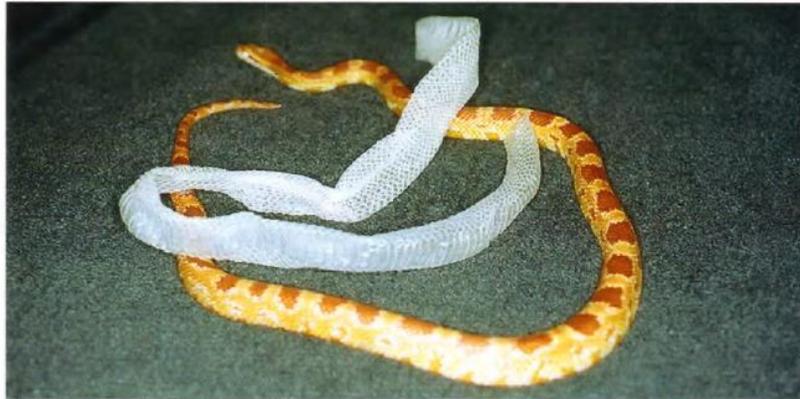


Figura 5.30. Muda normal.

Figura A- 5. Ecdisis de una serpiente.

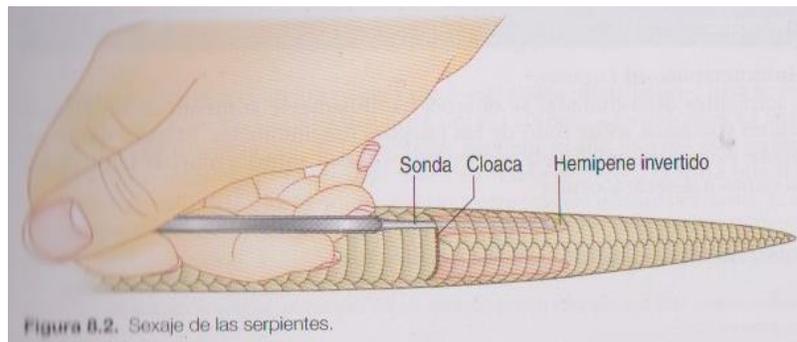


Figura 8.2. Sexaje de las serpientes.

Figura A- 6. Sexaje con sonda en una serpiente macho.

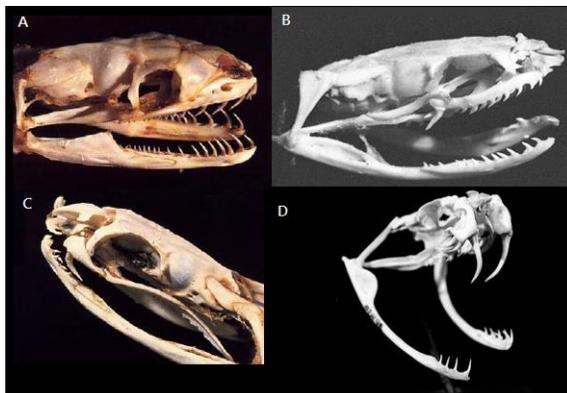


Figura A- 7. Grupos de dentición en serpientes: a) aglifas, b) opistoglifas, c) proteroglifas y d) solenoglifas



Figura A- 8. *Boa constrictor* del Parque zoológico Nacional de El Salvador matando a su presa por constricción.



Figura A- 9. Ejemplar de *Lampropeltis getula* del Parque Zoológico Nacional de El Salvador sumergida en una pileta de agua



Figura A- 10. Ejemplar de *Python brongersmai* del Parque Zoológico Nacional de El Salvador en un tronco ofrecido como refugio.

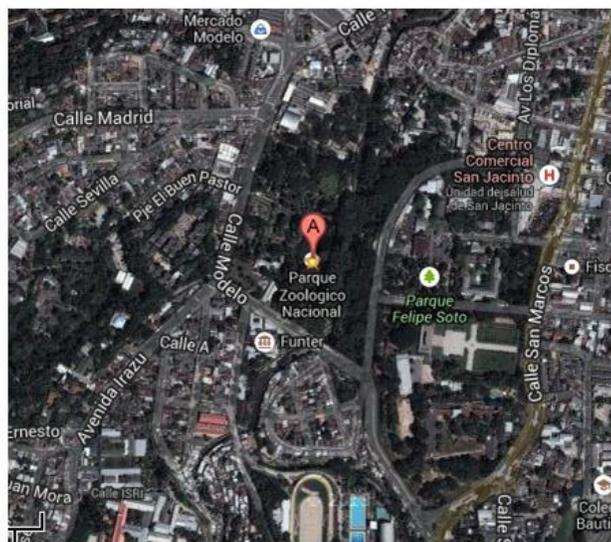


Figura A- 11. Ubicación geográfica del Parque Zoológico Nacional de El Salvador

ENTEROBACTERIAS	ENTEROBACTERIAS											
	INDOL	CITRATO	MOVILIDAD	UREA	H ₂ S	F. ALANINA	ORNITINA	LISINA	ARGININA	V. PROSK	MALONATO	DNA _s
<i>Cedecea davisae</i>	-	+	+	-	-	-	+	-	±	±	+	-
<i>C. neteri</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-
<i>C. diversus</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>C. freundii</i>	+	-	±	-	-	-	±	+	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i>	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-
<i>E. cloacae</i>	-	±	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>E. agglomerans</i>	-	+	+	-	-	±	+	-	+	+	-	-
<i>E. sakazakii</i>	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-
<i>Edwardsiella tarda</i>	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-
<i>Hafnia alvei</i>	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-
<i>K. oxytoca</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. ozaenae</i>	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-
<i>K. planticola</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>K. rhinoscleromatis</i>	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Morganella morganii</i>	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>P. penneri</i>	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>P. mirabilis</i>	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>P. vulgaris</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Providencia alcalifaciens</i>	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>P. rettgeri</i>	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella choleraesuis</i>	-	-	+	-	±	-	+	+	±	-	-	-
<i>S. typhi</i>	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>S. paratyphi A</i>	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>S. enteritidis</i>	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
<i>Serratia liquefaciens (Grupo)</i>	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+
<i>Shigella dysenteriae (GRUPO A)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. flexneri (GRUPO B)</i>	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. boydii (GRUPO C)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. sonnei (GRUPO D)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Figura A- 12. Tabla para identificación de bacterias entéricas.

Matriz final TOTAL de serpientes JUNTO CON TODOS LOS ANALISIS .sav [Conjunto_de_datos1] - IBM SPSS Statistics Editor de datos

Archivo Edición Ver Datos Transformar Analizar Marketing directo Gráficos Utilidades Ventana Ayuda

	Nombre	Tipo	Anchura	Decimales	Etiqueta	Valores	Perdidos	Columnas	Alineación	Medida	Rol
4	NCS	N Numérico	8	2	NOMBRE CIE...	{1.00, Lamp...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
5	COLOR	N Numérico	8	2	DESCRIPTOR ...	{1.00, COL...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
6	LONGITUD	N Numérico	8	2	LONGITUD EN ...	Ninguna	Ninguna	8	Derecha	Escala	Entrada
7	SEXO	N Numérico	8	2	DETERMINACI...	{1.00, HEM...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
8	PESO	N Numérico	8	2	PESO EN ONZ...	Ninguna	Ninguna	8	Derecha	Escala	Entrada
9	ACTIVIDAD	N Numérico	8	2	CLASIFICADA ...	{1.00, DIUR...	Ninguna	9	Derecha	Nominal	Entrada
10	DENTADURA	N Numérico	8	2	CLASIFICADA ...	{1.00, AGLI...	Ninguna	11	Derecha	Nominal	Entrada
11	TOXINA	N Numérico	8	2	CLASIFICADA ...	{1.00, PRO...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
12	ALIMENTA...	N Numérico	8	2	CLASIFICADA ...	{1.00, PEQ...	Ninguna	14	Derecha	Nominal	Entrada
13	TEMPERAT...	N Numérico	8	2	TEMPERATUR...	{1.00, 24°C}	Ninguna	8	Derecha	Escala	Entrada
14	CANTIDAD	N Numérico	8	2	NÚMERO DE ...	{1.00, 1}	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
15	ILUMINACION	N Numérico	8	2	TIPO DE ILUMI...	{1.00, NATU...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
16	COMPONE...	N Numérico	8	2	COMPONENT...	{1.00, PISO...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
17	AEROBIAS	N Numérico	8	2	BACTERIAS A...	{1.00, Negat...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
18	ANAEROBI...	N Numérico	8	2	BACTERIAS A...	{1.00, Negat...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
19	GB	N Numérico	8	2	GENERO DE L...	{1.00, negat...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
20	EB	N Numérico	8	2	ESPECIE DE L...	{1.00, negat...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
21	NCB	N Numérico	8	2	NOMBRE CIE...	{1.00, negat...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
22	CRECIMIE...	N Numérico	8	2	CRECIMIENTO...	{1.00, negat...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
23	GRAM	N Numérico	8	2	REACCION AL ...	{1.00, negat...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
24	MORFOLO...	N Numérico	8	2	MORFOLOGIA ...	{1.00, negat...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
25	ZOONOSIS	N Numérico	8	2	CLASIFICACIO...	{1.00, negat...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
26	P.ONZAS	N Numérico	8	2	PESO EN ONZ...	{1.00, (L12.0...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
27	BACTERIAS	N Numérico	8	2	QUE DETERMI...	{00, NEGA...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
28	PGR_1	N Numérico	8	2	Predicted group	{00, NEGA...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
29	pH	N Numérico	8	2	pH DE CADA U...	{1.00, 7}	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada

Vista de datos Vista de variables

IBM SPSS Statistics Processor está listo

Figura A- 13. Matriz de datos ingresados al programa SPSS Statistics 21