



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

TÍTULO DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE
SALMONELLA SPP. EN TORTUGAS MARINAS DE LOS SITIOS DE
INFLUENCIA DE LA REMACOPSE**

AUTOR

M.V.Z. Daniela Belén Carrillo Gálvez, M.Sc.

TRABAJO DE TITULACIÓN

**Previo a la obtención del grado académico en
MAGÍSTER EN BIODIVERSIDAD Y CAMBIO CLIMÁTICO**

TUTOR

M.Sc. Xavier Piguave Preciado

Santa Elena, Ecuador

Año 2025



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos calificadores, aprueban el presente trabajo de titulación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por el Instituto de Postgrado de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

**PhD. Roxana Álvarez Acosta
COORDINADOR DEL
PROGRAMA**

**MSc. Xavier Piguave Preciado
TUTOR**

**MSc. Tanya González Banchón
DOCENTE ESPECIALISTA 1**

**MSc. Richard Duque Marín
DOCENTE ESPECIALISTA 2**

**Ab. María Rivera González, Mgs.
SECRETARIA GENERAL
UPSE**



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

CERTIFICACIÓN:

Certifico que luego de haber dirigido científica y técnicamente el desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por el cual apruebo en todas sus partes el presente trabajo de titulación que fue realizado en su totalidad por Daniela Belén Carrillo Gálvez, como requerimiento para la obtención del título de Magíster en Biodiversidad y Cambio Climático.

Atentamente,

MSc. Xavier Piguave Preciado
TUTOR



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, Daniela Belén Carrillo Gálvez

DECLARO QUE:

El trabajo de Titulación, **ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *SALMONELLA SPP.* EN TORTUGAS MARINAS DE LOS SITIOS DE INFLUENCIA DE LA REMACOPSE** previo a la obtención del título en Magíster en Biodiversidad y cambio climático, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Santa Elena, a los 2 días del mes de diciembre de año 2025

M.V.Z. Daniela Belén Carrillo Gálvez, M.Sc.
AUTORA



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

AUTORIZACIÓN

Yo, Daniela Belén Carrillo Gálvez

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Estatal Península de Santa Elena, para que haga de este trabajo de titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de la investigación con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este informe de investigación dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Santa Elena, a los 2 días del mes de diciembre de año 2025

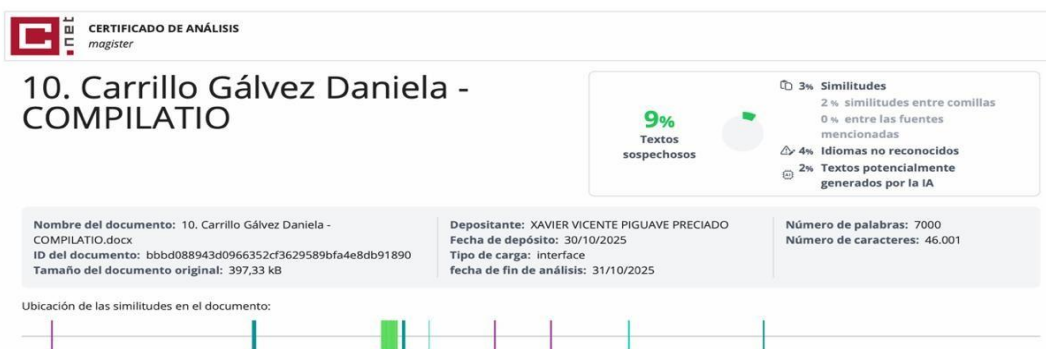
M.V.Z. Daniela Belén Carrillo Gálvez, M.Sc.
AUTORA



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

CERTIFICACIÓN DE ANTIPLAGIO

Certifico que después de revisar el documento final del trabajo de titulación denominado *ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE SALMONELLA SPP. EN TORTUGAS MARINAS DE LOS SITIOS DE INFLUENCIA DE LA REMACOPSE*, presentado por el estudiante, Daniela Belén Carrillo Gálvez fue enviado al Sistema Antiplagio COMPILATIO, presentando un porcentaje de similitud correspondiente al 9%, por lo que se aprueba el trabajo para que continúe con el proceso de titulación.



MSc. Xavier Piguave Preciado
TUTOR

DEDICATORIA

A la vida que hay por delante. A mi familia; María Sol, Pachingo, Camila, Mamitila, a mis hijos de cuatro patas, ustedes complementan mi día a día.

Daniela Belén Carrillo Gálvez

AGRADECIMIENTO

A Dios y a mi familia. A la REMACOPSE por su contribución para el desarrollo de esta investigación, en especial a Beatriz Ladines Villamar, gracias por brindarme su amistad, apoyo y oportunidad de haber realizado este trabajo con tortugas marinas dentro y fuera del área protegida.

A los compañeros guardaparques, quienes me colaboraron durante todo el proceso de campo, gracias por su colaboración y apoyo.

A mi tutor, MSc. Xavier Piguave Preciado, gracias por su paciencia, conocimientos, guía, dedicación y tiempo.

A MSc. Ana Cristina Noriega del laboratorio veterinario BioPet.

Daniela Belén Carrillo Gálvez

ÍNDICE GENERAL

TEMA	¡Error! Marcador no definido.
DEDICATORIA	vii
AGRADECIMIENTO.....	viii
CERTIFICACIÓN:.....	iii
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD.....	iv
AUTORIZACIÓN	v
ÍNDICE GENERAL.....	ix
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN	2
ABSTRACT	3
TEMA	4
INTRODUCCIÓN.....	4
PROBLEMÁTICA.....	5
JUSTIFICACIÓN.....	5
OBJETIVOS	6
<i>Objetivo general</i>	6
<i>Objetivos Específicos</i>	6
HIPÓTESIS.....	7
MARCO TEÓRICO.....	8
<i>Antecedentes</i>	8
<i>Marco conceptual</i>	8
<i>Salmonella</i>	9
<i>Salmonella en reptiles</i>	9
<i>Salmonella en tortugas marinas</i>	11
<i>Marco Legal sobre la Protección de tortugas marinas</i>	11

<i>Conservación de la vida silvestre</i>	13
<i>Análisis microbiológico de Salmonella spp</i>	13
METODOLOGÍA	14
<i>Área de estudio</i>	14
<i>Población</i>	15
<i>Diseño de la investigación</i>	15
<i>Enfoque, tipo, modo y alcance la investigación</i>	15
<i>Diseño para recolección de datos</i>	16
<i>Métodos de muestreo</i>	16
<i>Fase de campo</i>	16
<i>Lineamientos éticos y procedimientos para el estudio y manejo de animales silvestres</i>	16
<i>Toma de muestra de hisopado cloacal</i>	17
<i>Registro de medidas morfométricas de ancho curvo caparazón (AAC) y largo curvo caparazón (LCC)</i>	18
<i>Identificación de especie</i>	19
Identificación del sexo y edad	20
<i>Monitoreo terrestre</i>	21
<i>Monitoreo marino</i>	21
<i>Fase de laboratorio</i>	21
<i>Medio de transporte Stuart</i>	22
<i>MacConckey</i>	22
<i>Hektoen</i>	22
<i>Salmonella Shigella</i>	22
<i>Tinción Gram y observación en microscopio</i>	23
RESULTADOS	24
<i>DISCUSIÓN</i>	32
<i>CONCLUSIONES</i>	35
<i>RECOMENDACIONES</i>	36
ANEXOS	44
<i>Anexo 1</i>	44
<i>Anexo 2</i>	45
CERTIFICACIÓN DE ANTIPLAGIO	¡Error! Marcador no definido.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Especies de tortugas marinas identificadas en el estudio.</i>	15
Tabla 2. <i>Materiales utilizados en los monitoreos</i>	17
Tabla 3. <i>Especies y número de individuos identificados durante el estudio</i>	27
Tabla 4. <i>Resultados positivos a presencia de Salmonella spp.</i>	28
Tabla 5. <i>Medidas morfométricas del caparazón</i>	24

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. <i>Especies identificadas</i>	28
Gráfico 2. <i>Distribución de individuos por largo curvo caparazón</i>	26
Gráfico 3. <i>Distribución de individuos por el ancho curvo del caparazón</i>	26
Gráfico 4. <i>Sexo de la población</i>	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Mapa del Ecuador</i>	14
Figura 2. <i>Mapa de las zonas de influencia de la REMACOPSE</i>	14
Figura 3. <i>Registro de medidas morfométricas de ancho curvo caparazón y largo curvo caparazón</i>	19

ÍNDICE DE ANEXOS

Fotografía 1. <i>Tortuga marina anidadora regresando a su hábitat posteriormente de haber realizado actividades de desove y cubrimiento de nido y de haber recolectado la muestra y registro datos morfométricos por la investigadora.</i>	47
Fotografía 2. <i>Toma de muestras de hisopado cloacal.</i>	47
Fotografía 3. <i>Registro medidas morfológicas del caparazón</i>	48
Fotografía 4. <i>Reintroducción del espécimen a su hábitat natural</i>	48
Fotografía 5. <i>Colonias negras características de Salmonella spp. en medio de cultivo Salmonella Shigella.</i>	49
Fotografía 6. <i>Observación tinción Gram en microscopio, bacilos Gram negativos.</i> ...	49

RESUMEN

Las tortugas marinas cumplen un rol importante en los ecosistemas marinos, siendo consideradas especies centinelas de la salud de los océanos. Alrededor del mundo existen 7 especies de tortugas marinas, sin embargo, en el Ecuador se ha identificado a 5 de ellas; tortuga verde (*Chelonia mydas*), tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*), tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*), tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*) y tortuga caguama (*Caretta caretta*). Las tortugas marinas se enfrentan a distintas amenazas que ocasionan la disminución de poblaciones de estos individuos, como, por ejemplo, contaminación, pesca incidental, degradación de hábitat, cambio climático, presencia de patologías infecciosas entre otras. Al igual que en otros animales, las tortugas marinas presentan una gran variedad de bacterias en su microbiota intestinal, como lo es la *Salmonella spp.*, la misma que puede ocasionar graves problemas de salud en los animales como en los humanos.

Al ser la *Salmonella* una bacteria de carácter zoonótico y de contar con información limitada sobre este patógeno en estas especies, el objetivo de este estudio fue el de identificar la presencia de *Salmonella spp.* en las tortugas marinas de los sitios de influencia de la REMACOPSE. Por lo que, se realizaron monitoreos marinos y terrestres con captura de 19 tortugas marinas (*Chelonia mydas*, *Lepidochelys olivacea* y *Chelonya agassizii*), de las cuales se registraron las medidas morfológicas de caparazón y se recolectó muestras de hisopado cloacal. El aislamiento e identificación de *Salmonella spp.* se realizó mediante procedimientos microbiológicos de laboratorio (cultivo bacteriano en Agar MacConkey y Agar Hektoen, medio diferencial *Salmonella Shigella* y Tinción Gram. La prevalencia de *Salmonella spp.* en las tortugas marinas fue del 10.25%, identificando a la bacteria solamente en dos muestras pertenecientes a una hembra y un macho de tortuga verde (*Chelonia mydas*), ambos individuos presentaron similitudes en las medidas morfológicas de largo curvo caparazón y ancho curvo caparazón.

Palabras claves: *Salmonella spp.*, zoonosis, tortugas marinas, REMACOPSE, prevalencia.

ABSTRACT

Sea turtles play an important role in marine ecosystems, being considered sentinel species for ocean health. Around the world, there are 7 species of sea turtles; however, in Ecuador, 5 of them have been identified: green turtle (*Chelonia mydas*), olive ridley turtle (*Lepidochelys olivacea*), leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*), hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*), and loggerhead turtle (*Caretta caretta*). Sea turtles face various threats that cause population declines, such as pollution, bycatch, habitat degradation, climate change, and the presence of infectious diseases, among others. As with other animals, sea turtles have a wide variety of bacteria in their gut microbiota, such as *Salmonella* spp., which can cause serious health problems in both animals and humans.

Given that *Salmonella* is a zoonotic bacterium and that there is limited information about this pathogen in these species, the objective of this study was to identify the presence of *Salmonella* spp. in sea turtles in the areas influenced by the REMACOPSE project. Therefore, marine and terrestrial monitoring was carried out, capturing 19 sea turtles (*Chelonia mydas*, *Lepidochelys olivacea*, and *Chelonia agassizii*), from which carapace morphological measurements were recorded and cloacal swab samples were collected. The isolation and identification of *Salmonella* spp. The analysis was performed using laboratory microbiological procedures (bacterial culture on MacConkey Agar and Hektoen Agar, *Salmonella* Shigella differential medium and Gram staining). The prevalence of *Salmonella* spp. in sea turtles was 10.25%, identifying the bacteria only in two samples belonging to a female and a male green turtle (*Chelonia mydas*), both individuals showed similarities in the morphological measurements of carapace curved length and carapace curved width.

Keywords: *Salmonella* spp, zoonotic, sea turtles, REMACOPSE, prevalence.

TEMA

Análisis microbiológico para la identificación de *Salmonella spp.* en tortugas marinas de los sitios de influencia de la REMACOPSE

INTRODUCCIÓN

La Salmonelosis es una enfermedad infecciosa zoonótica que se encuentra distribuida a nivel mundial. Es causada por una bacteria gramnegativa conocida como *Salmonella* perteneciente a la familia Enterobacteriácea, la cual ha sido aislada en suelos, fuentes de agua y sistema digestivo de humanos y animales. Se estima que existen alrededor de 2,600 serotipos *Salmonella*, y se los clasifica en dos especies; *Salmonella enterica* (varios serovares que afectan a humanos y animales) y *Salmonella bongori* (no es muy común y se la asocia con animales de sangre fría). Las infecciones causadas por *Salmonella* suelen causar desde gastrointestinales hasta septicemias. Las principales vías de transmisión son el consumo de alimentos o agua contaminado, contacto con animales infectados y saneamiento inadecuado. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, se registran millones de enfermedades causadas por *Salmonella* todos los años, convirtiéndola en un grave problema de salud a nivel mundial, además que el 61% de las enfermedades presentes en los humanos son zoonóticas (Ahmad Bhat et al., 2022; Asfaw et al., 2022; Stec et al., 2022; LeLièvre et al., 2019; Ryan et al., 2017; Eng et al., 2015; Tauxe, 1997).

Ahora bien, las poblaciones de tortugas marinas se enfrentan distintas amenazas, las cuales pueden estar relacionadas con actividades humanas, contaminación, cambio climático y patologías. En el medio marino como en los animales existen bacterias oportunistas y patógenas, las mismas que en algún momento puede ocasionar enfermedades y presentar resistencia a los antibióticos. Por lo que, el contacto directo e indirecto de parte de los humanos con tortugas marinas, productos y entorno pueden presentar una amenaza para la salud pública. (Thilakarathne et al., 2024; Ebani, 2023a; Fuentes et al., 2023).

Por consiguiente, el objetivo de esta investigación es la de identificar la presencia de *Salmonella spp.* en las tortugas marinas de los sitios de influencia de la REMACOPSE, conociendo de esta manera la prevalencia de la bacteria aportando a temas de interés sobre una Sola Salud.

PROBLEMÁTICA

Las tortugas marinas al igual que otros animales son portadores de una gran variedad de microorganismos beneficiosos y potencialmente patógenos que se encuentran en la microbiota respiratoria, intestinal y cutánea, los mismos que en algún momento pueden provocar enfermedades tanto en los individuos como en humanos y otros animales humanos. En el caso de la *Salmonella*, es excretada a través de las heces de manera intermitente, sin embargo, no suele ser detectada en todos los individuos, por lo que se asumiría que hay ausencia de infección o que puede estar en estado latente (Bachmann et al., 2025; Ebani, 2023b; Fichi et al., 2016; Vivaldo et al., 2008).

En nuestro país, se desconoce la prevalencia de *Salmonella spp.* en las tortugas marinas, al ser una bacteria de carácter zoonótico y de tener posibles consecuencias con la salud pública, estado de salud de los individuos, se desea determinar si existe la presencia de *Salmonella spp.* en las tortugas marinas de la REMACOPSE.

JUSTIFICACIÓN

Las tortugas marinas se enfrentan a múltiples amenazas, tanto naturales como antropogénicas afectando de esta manera a sus poblaciones (Aguirre et al., 2006; Bossart, 2011). Aunque diversos estudios han documentado la presencia de patógenos zoonóticos en tortugas marinas en distintas partes del mundo (Ives et al., 2017; Aguirre et al., 2006). Se desea conocer si las tortugas marinas que se encuentran en los sitios de la REMACOPSE, son portadoras de *Salmonella spp.*, de tal manera que se identifique en que especies de presenta el patógeno. De tal manera, para que en un futuro se conozca sobre la epidemiología de la bacteria, estado de salud en el que se las poblaciones, además, de mejorar los protocolos de manejo de especies silvestres, e integrar el enfoque de “Una Sola Salud”, optimizando la salud de las personas, animales y ecosistemas trabajando en nuevos métodos de vigilancia y control de enfermedades.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la presencia de *Salmonella spp.* en tortugas marinas de los sitios de influencia de la REMACOPSE mediante técnicas de análisis microbiológico.

Objetivos Específicos

- Registrar las medidas morfométricas de las tortugas marinas, incluyendo longitud curva del caparazón (LCC) y ancho curvo del caparazón (ACC), como parte del perfil biológico de los individuos muestreados.
- Recolectar muestras de hisopado cloacal de tortugas marinas mediante protocolos estandarizados, garantizando condiciones de bioseguridad y conservación para su posterior análisis en laboratorio.
- Analizar muestras de hisopados cloacales de tortugas marinas a través de cultivos microbiológicos en medios selectivos y diferenciales, con el fin de identificar la presencia de *Salmonella spp.*
- Determinar la prevalencia de *Salmonella spp.* en la población muestreada, aplicando análisis estadístico no paramétrico (prueba de Kruskal-Wallis) para evaluar posibles diferencias entre grupos biológicos.

HIPÓTESIS

H₀: Existe evidencia a través de análisis microbiológico la presencia de *Salmonella spp.* en muestras de hisopado cloacal de tortugas marinas de los sitios de influencia de la REMACOPSE.

H₁: No existe evidencia a través de análisis microbiológico la presencia de *Salmonella spp.* en muestras de hisopado cloacal de tortugas marinas de los sitios de influencia de la REMACOPSE.

MARCO TEÓRICO

Antecedentes

La *Salmonella* es un patógeno de carácter zoonótico que afecta tanto a las personas como a los animales (Sodagari et al., 2020).

A las infecciones causadas por la bacteria de la *Salmonella* se la conoce como salmonelosis. Es una enfermedad de preocupación de salud pública a nivel mundial, ya que afecta los humanos y a los animales. En el caso de las personas, los niños menores de 5 años y adultos mayores son más susceptibles de contraer salmonelosis (Gutiérrez Cogco et al., 2000). Referente a la transmisión, la más común es la vía fecal oral, a través de la ingesta de alimentos como, por ejemplo, el consumo de carne de pollo y huevos contaminados (Antonio Lino Villacreses & Perozo Mena, n.d.). De igual manera, se puede contraer la enfermedad, por contacto y exposición a animales y al ambiente (Ebani, 2017).

Se ha identificado distintas bacterias zoonóticas en el tracto gastrointestinal de las tortugas marinas, pudiendo ser una fuente infecciones a través de fuentes de agua, playas o directamente por el contacto de las personas con las tortugas marinas (Ives et al., 2017).

Marco conceptual

Tortugas marinas

Existen 7 especies de tortugas marinas a nivel mundial, sin embargo, en el Ecuador se ha identificado a 5 de ellas; tortuga verde (*Chelonia mydas*), tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*), tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*), tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*) y tortuga caguama (*Caretta caretta*) (Gustavo Iturralde Muñoz et al., 2020).

Las tortugas marinas son especies emblemáticas y centinelas, además, de cumplir funciones importantes en el bienestar del ecosistema marino. Las tortugas marinas mantienen las praderas marinas y arrecifes de coral saludables, equilibran la cadena alimentaria, proporcionan nutrientes en las playas de anidación, son los principales depredadores de medusas entre otros roles que cumplen en el ecosistema (Kotera et al., 2022; Wilson et al.,

n.d.) .

Antiguamente, el consumo de carne, huevos y sangre de tortuga marina fue parte de la cultura de las poblaciones costeras del mundo. Sin embargo, en la actualidad la venta y consumo de carne y subproductos de tortugas marinas en algunos países es prohibido (Aguirre et al., 2006).

De acuerdo, con la Lista Roja de la UICN, la mayoría de sus especies se encuentran en alguna categoría de conservación, lo que evidencia su vulnerabilidad. En Ecuador, aunque la captura y comercialización de tortugas marinas está prohibida desde la década de los 70, aún se reportan casos de consumo de carne, huevos y otros subproductos en comunidades costeras, lo que representa un riesgo sanitario y ecológico (Ministerio del Ambiente y Agua del Ecuador et al., 2020) .

Salmonella

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriácea, y se ha identificado más de 2500 serotipos a nivel mundial. Son bacterias que miden alrededor de 0,4 a 0,6 µm, se mueven movilizan ya que presentan flagelos, la temperatura óptima para que puedan vivir es entre los 37°C y 54°C con un pH de 6.5 a 7.5. Además, que son bacterias Gram negativas, Gram negativas, anaerobios facultativos, oxidasa negativa y catalasa positiva (Ryan et al., 2017).

Este género se clasifica en dos especies, siendo una la *Salmonella enterica*, la misma que está dividida en 6 subespecies; *S. enterica* subespecie *enterica*, *S. enterica* subespecie *salamae*, *S. enterica* subespecie *arizonae*, *S. enterica* subespecie *diarizonae*, *S. enterica* subespecie *houtenae* y *S. enterica* subespecie y *S. enterica* subespecie *indica*. En el caso de las enfermedades gastro intestinales en los humanos y animales de sangre caliente, el 99% de las infecciones son originadas por *Salmonella enterica* subespecie *enterica*. Mientras que, en animales de sangre fría como los reptiles y en el ambiente se encuentran comúnmente la subespecie *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* (Eng et al., 2015).

***Salmonella* en reptiles**

En los años 40 se aisló por primera vez *Salmonella* en reptiles, sin embargo, de acuerdo, a varias investigaciones realizadas, se conoce que entre el 50% y 90% de los reptiles son reservorios de *Salmonella* (Pasman et al., 2021; Zajaç et al., 2021) No obstante, si bien se han aislado cepas de *Salmonella spp.* en heces, cloaca y piel de reptiles, algunos individuos pueden desarrollar infecciones asintomáticas causadas por distintos patógenos (Ebani, 2017).

Por lo que respecta a la salmonelosis asociada a reptiles es considerada un problema de salud pública a nivel mundial, por lo que actualmente la detección de cepas de *salmonella* en reptiles se ha vuelto un tema importante a tratar e investigar tanto, en la salud de los reptiles como en la de los humanos (Pees et al., 2023; Zajaç et al., 2021).

A pesar, que se ha aislado *salmonella* en reptiles sanos y ser parte del microbiota normal, se ha observado que causa enfermedades en los animales (Bjelland et al., 2020). En consecuencia, de esto, los resultados de necropsias realizados a reptiles de los cuales se han aislado cepas de *Salmonella*, se ha observado signos de esplenomegalia, necrosis entérica, miocarditis, entre otros (Geue & Löschner, 2002; Mitchell & Shane, 2001).

En 2016, tres zoológicos de Noruega realizaron un estudio de aislamiento de *Salmonella spp* mediante toma de muestras de hisopado cloacal a 103 reptiles entre ellos serpientes, lagartos y quelonios, los resultados de ese análisis arrojaron una prevalencia del 43% de serovares de *Salmonella* (Bjelland et al., 2020). Mientras que, en Portugal, un estudio realizado a 78 reptiles mantenidos como mascotas (serpientes, saurios y Chelonia) de distintas familias, dando como resultado 32 muestras positivas a aislamiento de *salmonella* dando una prevalencia del 41% (Cota et al., 2021). Por otro lado, se han realizado investigaciones de esta bacteria en otras especies de reptiles, por ejemplo, se ha aislado *Salmonella* en caimán americano (*Alligator mississippiensis*) según las necropsias, estos individuos presentaron edema peri visceral y edema pulmonar (Sakaguchi et al., 2017). Referente, a estudios realizados en reptiles del Ecuador, sobre aislamiento de *Salmonella spp.*, en el año 201, de muestras de hisopado cloacal se aisló *Salmonella spp.* en iguanas terrestres (*Conolophus subcristatus*) en las islas Galápagos, dando como resultado una prevalencia del 95% de *Salmonella* en esta especie (Franco et al., 2011). Cabe mencionar, que en otro estudio realizado sobre aislamiento de *Salmonella spp.* en iguanas marinas (*Amblyrhynchus cristatus*) de las Islas Galápagos, dieron como resultado la identificación de distintos

serovares de la bacteria, además, que presentaron resistencia antimicrobiana (Carrillo et al., 2022).

***Salmonella* en tortugas marinas**

Al igual que todos los animales, las tortugas marinas presentan bacterias en el microbiota gastrointestinal, sin embargo, algunas de estas bacterias tienen comportamientos oportunistas y pueden causar patogenicidad en sus hospedadores (Reséndiz & Fernández-Sanz, 2021). Referente a la presencia de *Salmonella* en las tortugas marinas y sobre los factores de riesgo asociados con la transmisión a los humanos, no hay muchos estudios sobre el tema (Ebani, 2023a). A pesar de que, se están realizando investigaciones en esta especie, aún se desconoce el estado de salud de las tortugas marinas ni que otras enfermedades están afectando a sus poblaciones. Como todos los seres vivos, las tortugas marinas también se ven afectadas a patologías, agentes infecciosos como hongos, virus, parásitos y bacterias. Se ha identificado distintos patógenos de carácter zoonóticos en el tracto gastrointestinal de las tortugas marinas como; *Campylobacter spp.*, *Vibrio spp.*, Coccidias y *Salmonella spp.* (Ives et al., 2017). Se ha aislado *Salmonella spp.* en tortuga verde (*Chelonia mydas*), tortuga golfina (*Lepidochelys olivácea*) y tortugas laúd (*Dermochelys coriacea*) anidadoras (Dutton et al., 2013; Work et al., 2019). Se ha identificado distintos patógenos de carácter zoonóticos en el tracto gastrointestinal de las tortugas marinas, como *Campylobacter spp.*, *Vibrio spp.*, Coccidias y *Salmonella spp.* El hallazgo de estos patógenos, pueden ser una fuente infecciones a través de fuentes de agua, playas o directamente por el contacto de las personas con las tortugas marinas (Ives et al., 2017). En este trabajo se realizarán técnicas microbiológicas para aislar *Salmonella spp.*

El crecimiento poblacional humano que se está dando en estos tiempos, está impactando el hábitat de los animales silvestres. Esto da como resultado que exista interacción entre poblaciones humanas, animales domésticos y animales silvestres, facilitando la transmisión de enfermedades zoonóticas y que se registre una resistencia antimicrobiana hacia ciertos patógenos (Mercat et al., 2016; Skov et al., 2008).

Marco Legal sobre la Protección de tortugas marinas

Es importante conocer la parte legal de nuestro país sobre la sobre los derechos de la biodiversidad. Por lo que, en la Constitución de la República del Ecuador, con Registro

Oficial 449 de 20 de octubre de 2008 y modificada el 25 de enero del 2021, se mencionan menciona los siguientes artículos; Art. 14.- *“Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, sumak kawsay. Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados”*. Art. 400.- *“El Estado ejercerá la soberanía sobre la biodiversidad, cuya administración y gestión se realizará con responsabilidad intergeneracional. Se declara de interés público la conservación de la biodiversidad y todos sus componentes, en particular la biodiversidad agrícola y silvestre y el patrimonio genético del país”*. Además, que según el Código Orgánico del Ambiente con Registro Oficial Suplemento 983 del 12 de abril del 2017, indica en el Art.147 sobre las prohibiciones específicas, numeral 5, *“La crianza, tenencia o comercialización de fauna silvestre exótica o nativa o sus partes constitutivas, de conformidad con las disposiciones contenidas en este Código”*. Cabe mencionar que, en el año 1975, Ecuador ratificó la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (CITES), donde se ha incluido a las tortugas marinas en el Apéndice I, para su conservación. Mientras que en, 1990, la Subsecretaría de Pesquerías de Ecuador emitió el Acuerdo Ministerial N°212 con el objetivo de prohibir permanentemente la captura, procesamiento y comercio de tortugas marinas en el Ecuador. Asimismo, el Ecuador junto con otros países, forma parte de convenios internacionales para la protección y conservación de estas especies, como son la Convención sobre la Diversidad Biológica (CBD), la Convención de Especies Migratorias (CMS) y la Convención Interamericana de Tortugas Marinas (CIT o Convenio Panamá) (Ministerio del Ambiente y Agua del Ecuador et al., 2020; Registro Oficial 746, 1988). Siendo de gran importancia la cooperación de otros países sobre la conservación de las poblaciones de tortugas marinas dentro y fuera del Ecuador. Con respecto a nivel nacional existe el Plan de Acción para la Conservación de Tortugas Marinas en Ecuador 2021-2030, el cual fue aprobado y oficializado mediante resolución Nro. MAAE-SPN-2021-001. La finalidad de este Plan de acción es el de proteger y mejorar el estado poblacional y hábitats de las tortugas marinas en nuestro país. Las líneas de acción en las cuales se fundamenta el documento son de cuidar, proteger y conservar las anidación, reproducción, migración y alimentación de las especies, además, de dar a conocer a la gente los programas de conservación que se realizan para minimizar acciones que representen amenazas a las tortugas marinas.

Conservación de la vida silvestre

La conservación de la vida silvestre, es importante ya que existen una interconexión con los ecosistemas, además que, la biodiversidad brinda beneficios para todos. Como, el equilibrio ecológico, valor económico, investigaciones científicas, valor turístico e importancia cultural y religiosa (Bhaskar Mahanayak, 2024). En relación con este tema, existen estrategias y metodologías que permiten la conservación y protección de especies de fauna y flora silvestre.

Mencionando así, la conservación in ex situ (fuera del sitio), método que se lo realiza fuera de su hábitat natural, empleado en casos de amenazas de hábitats naturales, especies han sido parte del tráfico ilegal entre otros. Considerando que, los zoológicos, acuarios, centros de rescate, entre otros, proporcionando cuidados específicos para el bienestar animal, y de ser el caso reintroducción de especies a su hábitat natural. Mientras que, la conservación in situ es un método que tiene como objetivo la protección, manejo y monitoreo de especies y de sus hábitats, como por ejemplo dentro de áreas protegidas (Mestanza-Ramón et al., 2020; Bhaskar Mahanayak, 2024). Lo cual permite realizar investigaciones y estudios de las especies silvestres en su medio natural.

Análisis microbiológico de *Salmonella spp*

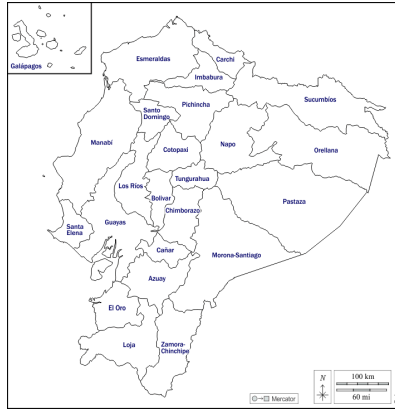
Los métodos microbiológicos utilizados en laboratorios para aislamiento de *Salmonella*, son utilizados para determinar la presencia o ausencia (González Pedraza et al., 2014). El aislamiento de la bacteria se realiza mediante cultivo microbiológico a partir de muestras de tejidos y material fecal de humanos (Ruiz et al., 2018). Cabe recalcar, que es un método sencillo, utilizado debido a su sensibilidad, especificidad, además, de no ser muy costoso (Mondragon et al., 2022). Así pues, los medios de cultivo que se emplean para la detección de *Salmonella* son medio de cultivo selectivos y posterior caracterización de colonias sugerentes a través de pruebas bioquímicas y serológicas (González Pedraza et al., 2014) . Las muestras recolectadas fueron enviadas para análisis microbiológico a BioPet Laboratorio Veterinario, ubicado en la ciudad de Guayaquil, provincia del Guayas.

METODOLOGÍA

Área de estudio

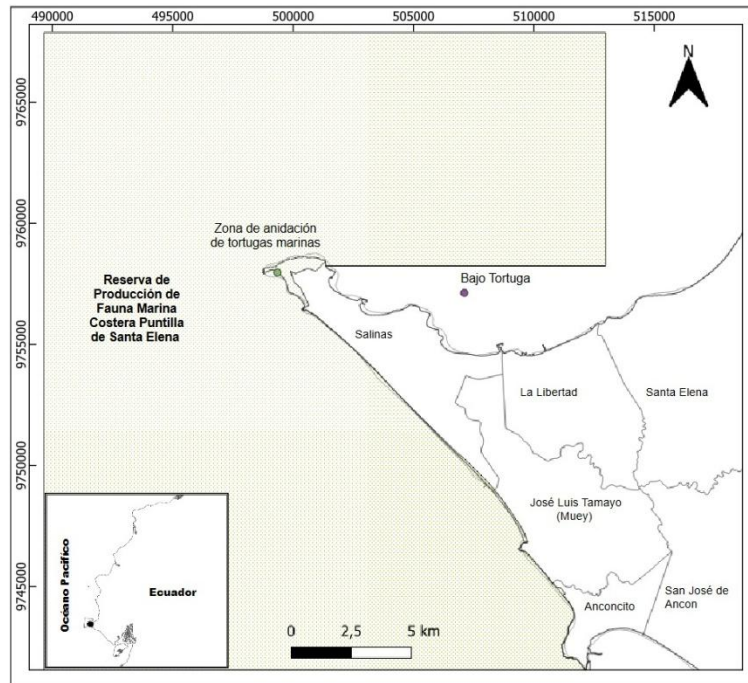
El sitio de estudio en donde se llevó a cabo la investigación fue en los sitios de influencia (Figura 1.) de la Reserva de Producción de Fauna Marino Costero Puntilla Santa Elena (REMACOPSE) ubicada en el cantón Salinas, provincia de Santa Elena (Ministerio del Ambiente, Agua y Transición, 2020). Cabe mencionar, que las muestras de tortugas anidadoras fueron recolectadas dentro del área protegida, en la playa de la Chocolatera, coordenadas 499352.00 m E y 9757979.00 m S, mientras que, la recolección de muestras en el mar fue en el Bajo Tortuga con las siguientes coordenadas 507109.00 m E, 9757132.00 m S. A continuación, se aprecia en la Figura 1, el mapa del Ecuador, mientras que en la Figura 2, se encuentra el mapa de las zonas de influencia de la REMACOPSE, donde se recolectaron las muestras de hisopado cloacal de las tortugas marinas (mapa elaborado mediante el Sistema de información geográfica Qgis, versión 3.4.)

Figura 1. Mapa del Ecuador



Fuente: Maps.com, 2023

Figura 2. Mapa de las zonas de influencia de la REMACOPSE



Elaboración: Carrillo, 2024

Población

La población para este estudio fueron 19 tortugas marinas. En la Tabla 1 se observan las especies identificadas. Al ser especies de vida silvestre que se encuentran en su hábitat natural, no se puede saber con certeza cual será el tamaño de la muestra.

Tabla 1. Especies de tortugas marinas identificadas en el estudio.

Nombre común	Nombre científico
Tortuga golfina	<i>Lepidochelys olivacea</i>
Tortuga verde	<i>Chelonia mydas</i>
Tortuga prieta (subespecie de <i>chelonía mydas</i>)	<i>Chelonia agassizii</i>

Diseño de la investigación

Para la presente investigación, se realizó un muestreo aleatorio simple, por lo que hay la probabilidad de que toda la población pueda ser elegida (Seoane et al., 2007). Se recolectaron muestras hisopados cloacales de tortugas marinas en su hábitat natural. La toma de muestras inicio en el mes de octubre 2024 hasta el mes de marzo 2025. Durante este tiempo, inicia la temporada de anidación de tortugas marinas, por lo que, en los monitoreos terrestres realizados por los guardaparques del área protegida, se recolectaron muestras de hisopado cloacal de las tortugas que suben a la playa de la Chocolatera a desovar (Anexo 1). En cuanto a los monitoreos marinos, fueron realizados durante horas de la mañana, en el Bajo Tortuga sitio de influencia del área protegida, además, de ser zona de forrajeo de tortugas marinas. Esta investigación contó con el respectivo permiso de investigación Permiso de Investigación No. MAATE-ARSFC-2024-0825 autorizado por el Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (MAATE).

Enfoque, tipo, modo y alcance la investigación

El presente estudio es de enfoque cualitativo, tipo descriptivo exploratorio, además, se trata de una investigación de campo en medio terrestre y marino. Se realizó recolección de muestra directa (hisopados cloacales), y el análisis microbiológico fue realizado por técnicas de laboratorio (cultivo bacteriano). La duración de este trabajo fue de seis meses. Aunque, se aplicaron análisis estadísticos como la prueba de Kruskal-Wallis y se calculó la prevalencia (lo cual podría sugerir elementos cuantitativos), el autor define el enfoque como

cualitativo, probablemente porque el énfasis está en la observación directa, el contexto ecológico y el análisis microbiológico descriptivo.

Diseño para recolección de datos

Métodos de muestreo

Fase de campo

Inicialmente, se realizó una capacitación con los guardaparques de la Reserva de Producción de Fauna Marino Costero Puntilla Santa Elena (REMACOPSE), en la cual se socializó la técnica de obtención de muestras de hisopados cloacales en tortugas marinas, normas de bioseguridad (Dutton et al., 2013; Lesley, 2008a; Eckert et al., 1999). Además, se impartió una charla sobre bienestar animal, en la cual se trató de técnicas y procedimientos éticos para que en lo menor posible ocasionar dolor, sufrimiento y minimizar la situación de estrés en las tortugas marinas (González, 2010; FIP BLUES, 2023; Varela et al., n.d.).

Lineamientos éticos y procedimientos para el estudio y manejo de animales silvestres

Al realizar estudios con cualquier especie animal, se debe contar y seguir lineamientos y procedimientos éticos que eviten el dolor, sufrimiento y generación situaciones de estrés a los animales.

Si bien, los las tortugas marinas no son mamíferos se ha tomado en consideración los lineamientos del documento “Lineamientos éticos y procedimientos para el estudio y manejo de mamíferos silvestres en el Ecuador”, desarrollado por la Asociación Ecuatoriana de Mastozoología (AEM) y su Comité de Bioética, en el mismo menciona lineamientos éticos y técnicos para garantizar el uso de prácticas correctas para el bienestar animal además de seguridad para los investigadores que realicen estudios con mamíferos silvestres (Erazo et al., 2022). Además, se tomó en cuenta lo detallado en el documento “Manipulación y liberación segura de tortugas marinas, manual de buenas prácticas” (FIP BLUES, 2023).

Debe señalarse, que esta investigación contó con el apoyo de los guardaparques de la REMACOPSE, quienes, además, de ser biólogos de profesión conocen sobre el manejo y manipulación de tortugas marinas, de igual manera, la autora de esta investigación ha tenido experiencia previa sobre manejo, manipulación de animales silvestres, todo a su vez para

garantizar el bienestar de las tortugas marinas al momento de la toma de muestras y posterior reintroducción a su medio natural.

Toma de muestra de hisopado cloacal

Para la obtención de las muestras cloacales se aplicó se trabajó con los lineamientos descritos por los siguientes autores; (Dutton et al., 2013; Lanci et al., 2012; Lesley, 2008b; Lanci et al., 2012).

El procedimiento consistió en lo siguiente:

- 1) Levantar cuidadosamente la cola del animal para exponer la cloaca
- 2) Insertar un hisopo estéril aproximadamente 5 cm y realizar movimientos circulares en sentido horario de 306°.
- 3) Retirar cuidadosamente el hisopo y colocarlo en el medio de transporte Stuart, debidamente codificado con información de la muestra (fecha, especie, sexo)
- 4) Almacenar la muestra en una caja ISO 8 EPS a temperatura ambiente para su posterior envío al laboratorio veterinario BIOPET, ubicado en la ciudad de Guayaquil.

En la Tabla 2. Se encuentran los materiales utilizados durante los monitoreos terrestres y marinos.

Tabla 2. Materiales utilizados en los monitoreos

Material	Monitoreo terrestre	Monitoreo marino
Linterna	X	
Toalla mediana	X	X
Guantes de nitrilo	X	X
Cinta métrica	X	X
Lápiz	X	X
Libreta de apuntes	X	X

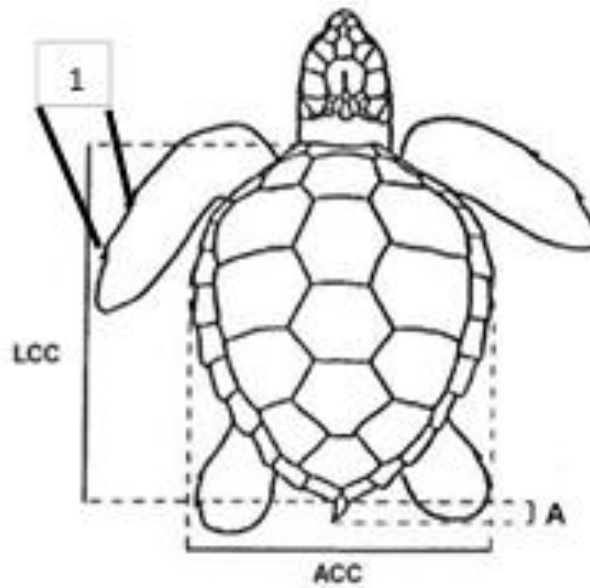
Tubos con medio de transporte Stuart	X	X
Caja ISO 8 EPS1Q1	X	X
Equipo de buceo completo		X
Red de pesca		X

Registro de medidas morfométricas de ancho curvo caparazón (AAC) y largo curvo caparazón (LCC)

Se registraron las medidas de ACC y LCC con una cinta métrica plástica (Figura 3.), de acuerdo con lo descrito de acuerdo a (Castro Casal, 2016; Eckert et al., 1999; Lesley, 2008b; Rosero, 2018) . Se trabajo con una ficha de registro elaborada por la autora (Anexo 1.)

Durante todo el procedimiento en el que se estuvo en contacto con la tortuga marina, tanto en recolección de muestra, registro de medidas morfométricas y reintroducción de la especie a su medio natural, tanto la investigadora como el personal del área protegida cumplieron con las medidas de bioseguridad y bienestar animal.

Figura 3. Medidas morfométricas de ancho curvo caparazón y largo curvo caparazón (cm)



Fuente: Rosero, 2018

Identificación de especie

Para la identificación de especies de tortugas marinas, se siguieron los lineamientos descritos en las Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas (Eckert et al., 1999).

Familia *Cheloniidae*

- Tortuga verde (*Chelonia mydas*)

Las tortugas de esta especie presentan un caparazón de forma oval con cuatro pares de escudo, las medidas longitudinales de largo del caparazón son de hasta 120 cm. Tienen una cabeza redondeada, en la que se observa un par de escamas prefrontales; cuatro pares de escamas post orbitales. La coloración de los individuos, es variable en adultos, por lo que el caparazón puede ser de tonos cafés, amarillo crema (Eckert et al., 1999).

- Tortuga prieta (*Chelonia mydas* / *C. agassizii*)

Con lo que concierne a esta tortuga marina, varios autores tienen distintos criterios sobre su estatus taxonómico (BOWEN & KARL, 2007; Eckert et al., 1999; Karl & Bowen, 1999; Pritchard et al., 1999) Cabe resaltar, que la UICN, no reconoce a la tortuga prieta como una especie (o subespecie) de *Chelonia*. Eckert, (1999) ha adoptado el estatus “quo”, por li que a nivel mundial existen siete especies de tortugas marinas y que "*agassizii*" queda delimitada dentro de *Chelonia mydas*. Pero según, Cisneros-Heredia (2006, el mantiene el estatus subespecífico como *Chelonia mydas agassizii* de poblaciones del Pacífico Oriental (incluido Ecuador). Cabe mencionar, que los varios investigadores que trabajan con tortugas marinas, mencionan que deben realizarse estudios sobre las poblaciones de tortuga prieta, para tener mayores conocimientos sobre el tema. En este trabajo se ha considerado *Chelonia mydas agassizii*, recalcando que es un tema a discutir el cual debe ser investigado a futuro.

La tortuga prieta, presenta caparazón en forma acorazonada, con escotadura posterior en adultos, aplanado en el perfil anterior, tiene cuatro pares de escudos costales. El largo del caparazón es aproximadamente de 90 cm. La cabeza al igual que la de tortuga verde es redondeada anteriormente, pero presenta un par de escamas prefrontales y cuatro escamas post orbitales, seguido por tres pares. Además, se ha registrado que las aletas son más largas en comparación a otras poblaciones de *Chelonia*, y presentan una uña en cada aleta. El color del caparazón es negro el cual se ha observado en la mayoría de las tortugas prieta, pero en algunos individuos se ha visto coloración grisácea o con manchas negras. (Eckert et al., 1999).

- Tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*)

Tiene un caparazón corto y ancho, se aprecian de cinco a nueve pares de escudos costales (comúnmente seis a ocho) frecuentemente con una configuración asimétrica, mide al alrededor de hasta 72 cm. Estas tortugas tienen una cabeza grande y de forma triangular con dos pares de escamas prefrontales. Las extremidades presentan dos uñas en cada aleta (algunos adultos pueden perder la uña secundaria en las aletas delanteras). Cuando son adultas presentan una coloración verde olivo (claro u oscuro), tonalidad amarillo crema en la parte ventral de adultos (Eckert et al., 1999).

Identificación del sexo y edad

Los machos de esta especie presentan mayor desarrollo en las uñas y la cola es más larga y

gruesa a diferencia de las hembras. Se consideró adultos a tortuga verde (*Chelonia mydas*) con un tamaño promedio de largo de caparazón de 96.4 cm, tortuga prieta (*Chelonia agassizii*) 77.5 cm de largo caparazón y tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) largo curvo de caparazón 67.6 cm (Antonio & Salazar, 2008).

Monitoreo terrestre

En el monitoreo terrestre se realizaron caminatas nocturnas y de madrugada a lo largo de la playa la Chocolatera, en los cuales se identificaron huellas de subida de tortuga marina. Una vez localizada a la tortuga marina anidadora, se mantuvo una distancia de 3 metros y se esperó que termine la actividad que estaba realizando (excavando, desovando o tapando el nido). Posteriormente, se procedió a acercarse por la parte de atrás del espécimen cubriendo la cabeza con una toalla húmeda, dejando las fosas nasales libres esto con finalidad de ocasionar menos estrés en la especie, por consiguiente, se recolectó la muestra de hisopado cloacal, registro de medidas morfométricas e identificación de especie. Finalmente, se tomó nuevamente distancia de la tortuga marina, para que este pueda regresar a su medio natural (Fotografía 1.).

Monitoreo marino

Una vez identificado el Bajo Tortuga, de acuerdo con las coordenadas, se arrojó la red de pesca formando un círculo, a continuación, tres buzos del área protegida se sumergieron para realizar la captura de tortugas marinas, las mismas que fueron llevadas al bote para proceder con la toma de muestra de hisopado cloacal (Fotografía 2.), registro de medidas de ancho y largo de caparazón (Fotografía 3.) e identificación de especie. Durante ambos procesos, la tortuga marina estuvo cubierta la cabeza con una toalla húmeda (dejando las fosas nasales libres) para evitar situaciones de estrés. Finalizado, la toma de muestra y registro de medidas, el espécimen fue reinsertado al mar (Fotografía 4).

Fase de laboratorio

Las muestras fueron enviadas al laboratorio veterinario BioPet ubicado en la ciudad de Guayaquil, provincia del Guayas. En donde realizaron cultivo bacteriano con aislamiento intencional para determinación de *Salmonella spp.* El protocolo utilizado por el laboratorio para cultivo bacteriano con aislamiento intencional para determinación de *Salmonella spp.* Fue a partir de una primera siembra madre en Agar MacConkey y Agar Hektoen, posteriormente una resiembra al medio diferencial Agar SS (*Salmonella-Shigella*) de las colonias sospechosas (Fotografía 5), a las mismas que fue realizado la Tinción Gram y posterior observación de la placa en microscopio (Fotografía 6.).

Medio de transporte Stuart

Es un medio de transporte semisólido utilizado para el transporte y conservación de muestras biológicas, está diseñado para mantener la viabilidad de los microorganismos cuando la inoculación en el medio de crecimiento no es inmediata (Remel Technical Manual of Microbiological Media, 2010).

MacConckey

Es un medio de cultivo selectivo y diferenciador en el cual solamente se cultivan bacterias gramnegativas. Si en este medio de cultivo se observan colonias bacterianas de color rosado indica que son bacterias fermentadoras de lactosa, mientras que las que no fermentan lactosa formarán colonias de color blanco (Jung & Gilles J. Hoilat, 2024).

Hektoen

Es un medio para el aislamiento de las bacterias *Shigella* y *Salmonella*. Las colonias de *Salmonella* presentan coloración verde azulada con un centro negro, esto se debe a la producción de sulfuro de hidrógeno (Gaillot et al., 1999; Handbook of Culture Media for Food Microbiology & J.E.L. Corry, 2003; MCD LAB, n.d.).

Salmonella Shigella

Medio selectivo y de diferenciación para el aislamiento de bacilos entéricos patógenos. En el caso del género *Salmonella*, estos organismos son capaces de fermentar lactosa por lo que en el medio aparecen colonias con centro negro (Dickinson, 2013; Neyaz et al., 2024) .Ex

Tinción Gram y observación en microscopio

Es uno de los métodos de laboratorio más utilizado en el diagnóstico y clasificación de bacterias (BaroloméJO, 1952) En este método se utilizan reactivos para poder identificar la morfología bacteriana. Por lo que, el principio de este método, es el de la capacidad de la pared celular bacteriana de retener el colorante violeta al tener contacto con disolventes. Al inicio, todas las bacterias absorben el tinte violeta, pero al momento de estar en contacto con disolventes, la capa lipídica de los organismos gramnegativos se disuelve, lo que ocasiona la pérdida del color primario (cristal violeta), por lo que al aplicar un segundo colorante (safari) las bacterias Gram negativas se tornan de un color rosa o rojo lo que se observa a través de un microscopio (Erkmen, 2021; Libenson & Mcilroy, n.d.; Mora, 2012; Paray et al., 2023; Raidal et al., 1998; SHUGAR & BARANOWSKA, 1954; Tripathi & Sapra, 2025).

Por otro lado, se puede realizar pruebas bioquímicas complementarias y de diagnóstico molecular (Pérez Caamaño et al., 2021).

Pruebas Bioquímicas:

- Agar Triple Azúcar y Hierro (TSI)
- Prueba de Citrato de Simmons
- Prueba de la UREASA
- Medio de Sulfuro de Indol para movilidad (SIM)
- Bateria bioquímica API 20 E

Diagnóstico molecular

- Reacción en Cadena de la Polimerasa a tiempo real (PCR-TR)

Análisis de datos

Los resultados obtenidos fueron tabulados en una hoja de Excel para luego ser procesados al software estadístico Minitab19.

La determinación de presencia y ausencia de *Salmonella spp.* fue mediante el cultivo bacteriano y análisis microbiológico realizado con los protocolos de aislamiento de la

bacteria en el laboratorio BioPet.

La prevalencia indica la cantidad de enfermedad que existe en una población en un momento dado (Jaramillo Arango & Martínez Maya, 2010). Se trabajó con la siguiente fórmula:

$$\textit{Prevalencia} = \frac{\textit{Número de casos positivos}}{\textit{Población total}} \times 100$$

Prueba de Kruskal-Wallis

Es una prueba estadística equivalente a un no paramétrico de un ANOVA, utilizada para conocer si las muestras provienen de la misma distribución. Esta prueba no asume la normalidad, pero asume que las observaciones de cada grupo provengan de poblaciones con la misma forma de distribución (Ostertagová et al., 2014). Por lo que se trabajó con los datos morfométricos de las tortugas marinas (LCC y ACC), conociendo así, la relación entre la especie, tamaño de las tortugas marinas y la presencia de *Salmonella spp.* tomando como ejemplo la investigación de Reséndiz & Fernández-Sanz, 2021. Se trabajó con el programa Minitab 19.0.

RESULTADOS

Presencia de *Salmonella spp.*

Se identificó mediante análisis microbiológico la presencia de *Salmonella spp.* en 2 muestras de hisopado cloacal de las tortugas marinas de los sitios de influencia de la REMACOPSE (Tabla 3).

Tabla 3. Medidas morfométricas de ancho y largo curvo del caparazón

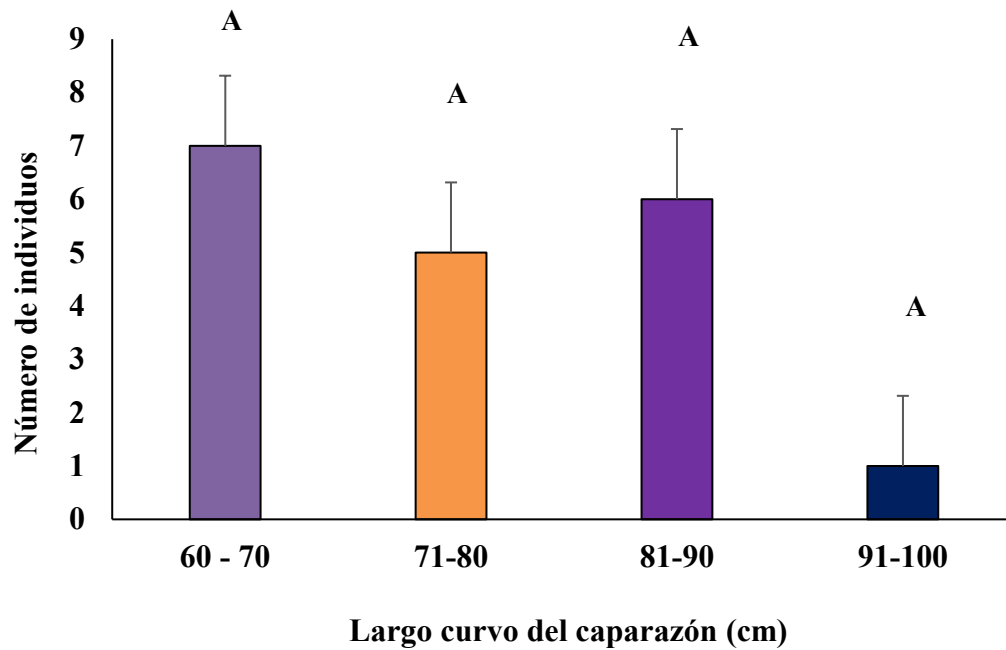
Nombre científico	LCC	ACC
<i>Lepidochelys olivacea</i>	x64 cm	63 cm

<i>Lepidochelys olivacea</i>	71 cm	65 cm
<i>Lepidochelys olivacea</i>	71 cm	65 cm
<i>Lepidochelys olivacea</i>	70 cm	75 cm
<i>Chelonia mydas</i>	88 cm	80 cm
<i>Chelonia mydas</i>	84 cm	74 cm
<i>Chelonia mydas</i>	83 cm	76 cm
<i>Chelonia mydas</i> *	75 cm	73 cm
<i>Chelonia mydas</i>	83 cm	63 cm
<i>Chelonia agassizii</i>	60 cm	59 cm
<i>Chelonia mydas</i>	83 cm	78 cm
<i>Chelonia mydas</i> *	77 cm	73 cm
<i>Lepidochelys olivacea</i>	64 cm	68 cm
<i>Chelonia mydas</i>	67 cm	67 cm
<i>Lepidochelys olivacea</i>	64 cm	63 cm
<i>Chelonia mydas</i>	79 cm	75 cm
<i>Chelonia mydas</i>	87 cm	87 cm
<i>Chelonia mydas</i>	98 cm	91 cm
<i>Chelonia mydas</i>	69 cm	66 cm

Nota: Las especies que se encuentran con un *, dieron resultado positivo a presencia de *Salmonella spp.*

Se determinó el largo curvo de los individuos muestreados resultando que el 36.84% estuvieron en un rango de 60 – 70 cm (n =7), mientras que en menor número se encontró al rango de 91 – 100 cm con el 5.26 % (n=1). Además, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los datos obtenidos (Gráfico 1.).

Gráfico 1. Distribución de individuos por largo curvo caparazón

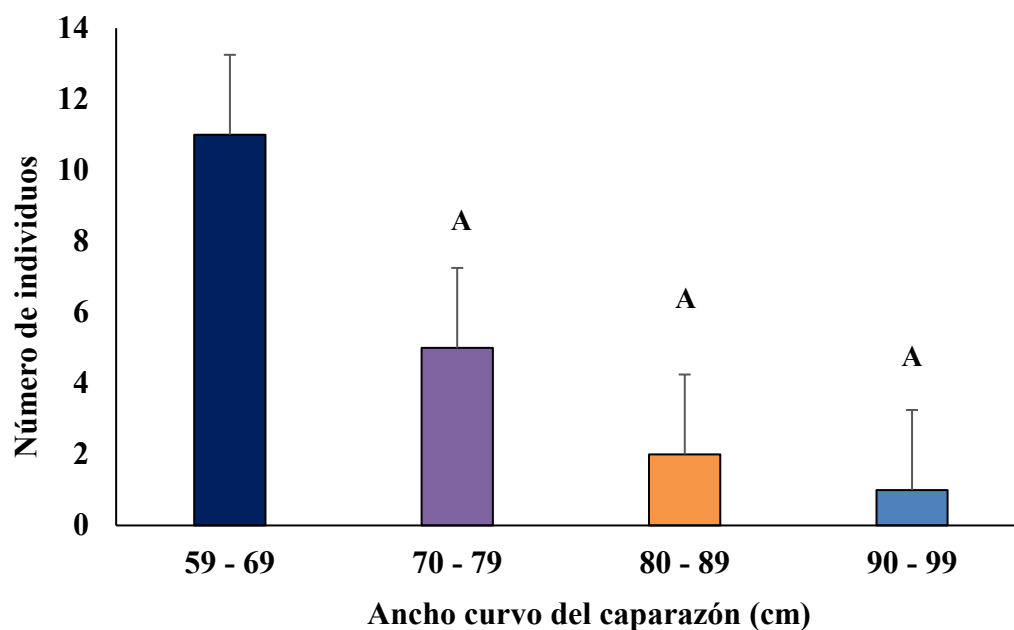


Nota. Los resultados obtenidos de las medidas de largo curvo caparazón en el Gráfico 1, se presentan como barras representando el valor correspondiente. Las letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas según prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Del mismo modo, al ancho curvo caparazón (Gráfico 2) de los individuos muestreados resultando que el 57.89% estuvieron en un rango de 59 – 69 cm ($n = 11$), a diferencia del rango de 91 – 100 cm con el 5.26 % ($n = 1$) en menor proporción de individuos contabilizados. Así mismo, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los datos obtenidos.

Gráfico 2. Distribución de individuos por el ancho curvo del caparazón

A



Nota. Los resultados obtenidos se presentan como barras representando el valor correspondiente. Las letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas según prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Recolección de muestras de hisopado cloacal

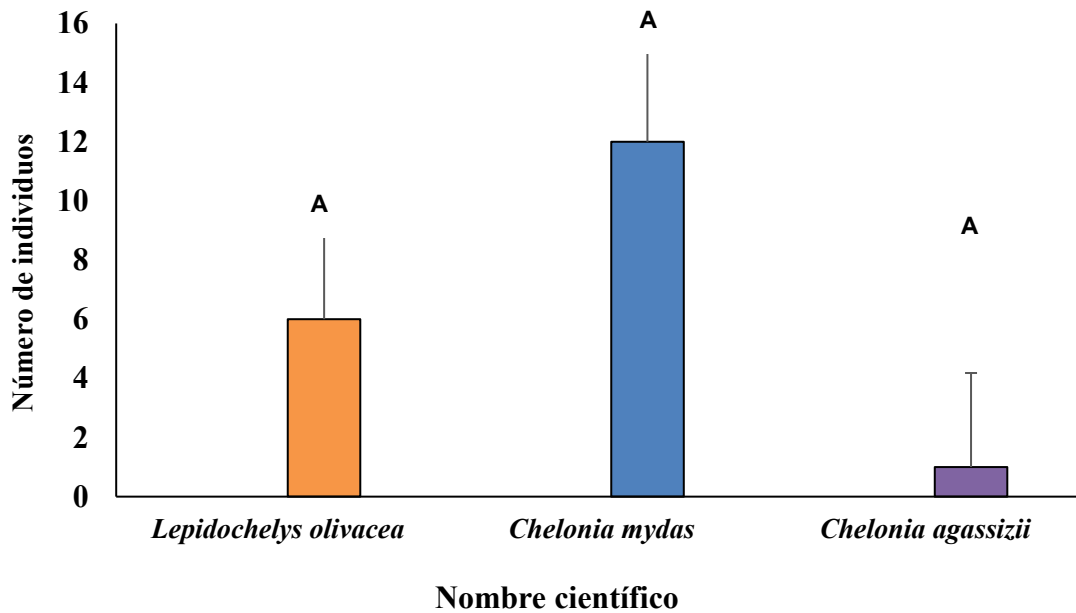
Se recolectaron un total de 19 muestras de tortuga verde, tortuga golfina y tortuga prieta. (Tabla 4)

Tabla 4. Especies y número de individuos identificados durante el estudio

Nombre común	Especie	Individuos
Tortuga verde	<i>Chelonia mydas</i>	12
Tortuga golfina	<i>Lepidochelys olivacea</i>	6
Tortuga prieta	<i>Chelonia agassizii</i>	1

También, se identificaron un total de tres especies de tortugas marinas para el presente estudio, siendo *Chelonia mydas* la más representativa ($n=12$; 63.15 %), *Lepidochelys olivacea* ($n=6$; 31.58%) y en menor proporción a *Chelonia agassizii* ($n =1$; 5.26%) de todos los individuos muestreados. Cabe mencionar, no existe diferencias significativas entre los datos determinados por especie (Gráfico 3).

Gráfico 3. Especies identificadas



Nota. Distribución de individuos por especie de tortugas marinas muestreadas. Los resultados obtenidos se presentan como barras representando el valor correspondiente. Las letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas según prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$)

Análisis microbiológico

Se realizó el análisis microbiológico a cada individuo, resultando positivo la presencia de *Salmonella spp.* en solamente dos individuos del total muestreado (Tabla 5) y presentó una ausencia del patógeno en diecisiete tortugas marinas. Las colonias de *Salmonella* en agar *Salmonella Shigella* presentan el centro de color negro y en la tinción Gram, a través de un microscopio óptico, se observan bacterias gramnegativas, en forma de bastón (Zahraa A. Al-Jaberi & Dunya AH AI-Abbawy, 2023).

Tabla 5. Resultados positivos a presencia de *Salmonella spp.*

Nombre científico	Sexo	Sitio de recolección
<i>Chelonia mydas</i>	Macho	Bajo Tortuga
<i>Chelonia mydas</i>	Hembra	Bajo Tortuga

Nota. Noriega, 2024

Ambos individuos pertenecen a la especie *Chelonia mydas* de distinto sexo y comparten el mismo ancho del caparazón (73 cm). No obstante, difieren en el largo del caparazón 75 y 77 cm respectivamente.

Así mismo, el resultado de la prevalencia de *Salmonella spp.* de las muestras de hisopados cloacales de las tortugas marinas de los sitios de influencia a la REMACOPSE es del 10.25%, lo que demuestra una prevalencia baja frente a la presencia de este patógeno en las tortugas marinas que fueron muestreadas.

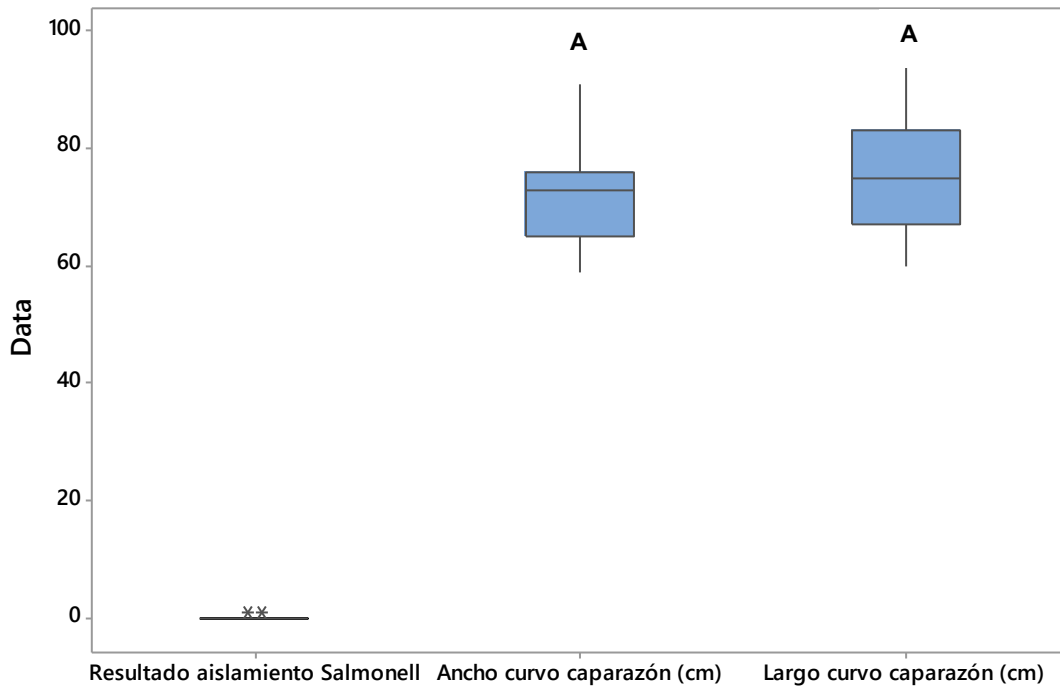
Por otro lado, se realizó una gráfica de boxplot para verificar la presencia de *Salmonella spp.* y su relación con el largo y ancho de los caparazones de los organismos muestreados. Cabe indicar, que los valores se concentran prácticamente en cero en la mayoría de datos, lo cual refleja que solo dos de los 19 individuos analizados dieron positivo para *Salmonella spp.*

El boxplot del ancho curvo del caparazón muestra una distribución más amplia, con valores aproximadamente entre 60 y 85 cm. Esto indica que las tortugas evaluadas presentan una variabilidad normal en su tamaño.

De manera similar, el largo curvo del caparazón presenta valores entre 65 y 95 cm. El rango es ligeramente mayor que el del ancho, pero continúa mostrando un patrón homogéneo entre los individuos. Al igual que en la variable anterior, no se observa ningún punto extremo o desplazamiento en los valores que sugiera una asociación directa entre el largo del caparazón y la presencia de *Salmonella spp.*

Cabe destacar, que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre datos ($p > 0,05$).

Gráfico 5. Boxplot entre ancho y largo de caparazón y la presencia de *Salmonella spp.*

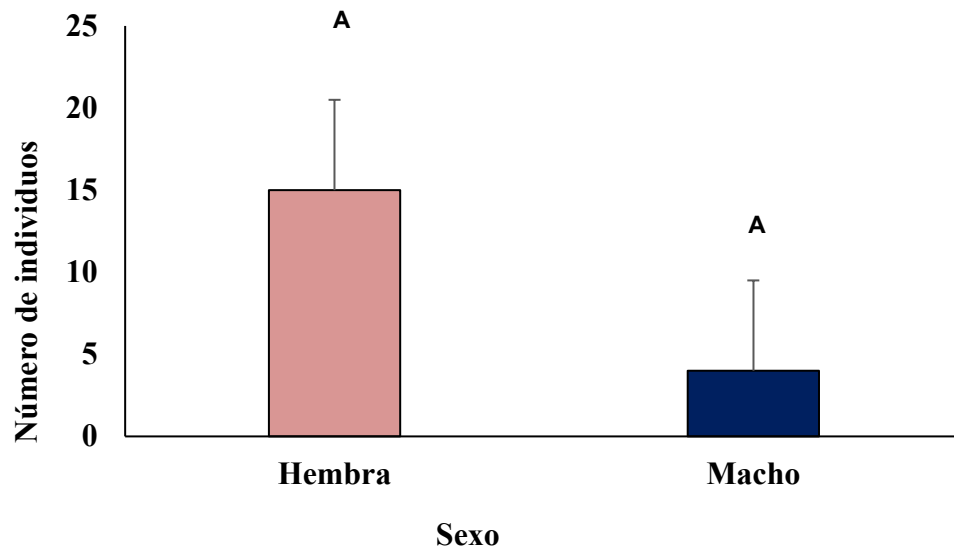


Nota. Las letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de 1 vía y test posterior de Tukey ($p < 0,05$)

Sexo de la población

En la población general se encontró que las hembras correspondieron al 78.95 % de la población muestreada ($n=15$), a diferencia de los machos que estuvieron en una proporción del 21.05 % del total muestreado ($n=4$) (Gráfico 6). Cabe indicar, que no existieron diferencias significativas en los datos muestreados por sexo.

Gráfico 6. Sexo de la población



Nota. Distribución. Los resultados obtenidos se presentan como barras representando el valor correspondiente. Las letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas según prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

Los porcentajes de los resultados de prevalencia de *Salmonella* en los reptiles varían del 0 al 100%, esto puede deberse a distintos factores, como técnicas de diagnóstico, estado de salud, especie del reptil, si se encuentra en cautiverio bajo condiciones de estrés, sistema inmunitario, dieta y condiciones ambientales (Pees et al., 2023a).

De acuerdo a, Muslin et al., 2025, en su investigación sobre Prevalencia de *Salmonella* y distribución de serotipos en reptiles: una revisión sistemática y metaanálisis, arrojaron resultados en donde se aprecia una prevalencia mayor de la bacteria en tortugas marinas y terrestres (18.8%, IC del 95% : 9.633 % y 16. %, IC del 95%: 11.323 %, al compararla con la prevalencia de *Salmonella* en tortugas de agua dulce fue menor, por lo que menciona que estos resultados pueden deberse al número de tortugas muestreadas y al no haber estudios sobre el tema (Muslin et al., 2025).

De igual manera, el porcentaje de la prevalencia de *Salmonella spp.* en tortugas marinas tiene variaciones significativas. Respecto a la especie, tortugas laúd (*Dermochelys coriacea*) presentaron una prevalencia del 14.2% (Dutton et al., 2013), Trotta et al. (2021) aislaron *Salmonella* en el 4% de tortugas boba (*Caretta caretta*). Mientras que, en Brasil, Short et al. (2023) aisló *Salmonella spp.* y otros patógenos en tortuga verde, y los resultados de prevalencia en este estudio fue del 10.25% de *Salmonella* en tortuga verde (*Chelonia mydas*).

De igual manera, Trotta et al. (2021) aislaron *Salmonella* en el 4% de tortugas boba (*Caretta caretta*). Mientras que, en Brasil, Short et al. (2023) aisló *Salmonella spp.* y otros patógenos en tortuga verde, además, realizaron pruebas de resistencia antimicrobiana. Por otra parte, en Australia tomaron una muestra de hisopado cloacal de una tortuga verde antes de haber sido ingresada a un centro de rehabilitación, dando resultado ausencia de la bacteria, sin embargo, posterior a la rehabilitación se realizó nuevamente una toma de muestra y dio como positivo a *Salmonella* (Ahasan et al., 2018). De hecho, estos hallazgos evidencian que la presencia de *Salmonella* en tortugas marinas es un fenómeno global, pudiendo ser identificada en animales que se encuentran en cautiverio o en vida silvestre.

Referente a las técnicas de diagnóstico, Ives et al. (2017) encontraron prevalencias más elevadas en la misma especie (*Dermochelys coriacea*) el 22% fue mediante cultivo bacteriano y 33% por métodos moleculares, sin embargo, los resultados de prevalencia de la bacteria en tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*) fue de entre 0% y 8%, mientras que la tortuga verde (*Chelonia mydas*) no mostró presencia de *Salmonella*. En Granada, Edwards et al. (2021) identificaron prevalencias particularmente altas mediante la utilización de la técnica del PCR, por lo que los resultados fueron en tortugas carey (*Eretmochelys imbricata*) 50%, 47% en tortuga verde (*Chelonia mydas*) y 36.8% en tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*). Si bien, el cultivo bacteriano en medios selectivos para bacterias Gram negativas es comúnmente utilizado en los laboratorios, se debe complementar estos estudios con métodos moleculares como la PCR, como lo menciona de Edwards et al., (2021).

En el caso de este estudio, no se realizaron pruebas moleculares (PCR en tiempo real), ni pruebas de resistencia antimicrobiana ya que no se contó con los recursos económicos suficientes para realizar estos estudios. Sin embargo, existe la necesidad de realizarnos en investigaciones futuras, ya que la PCR permitiría conocer más sobre las serovariedades de *Salmonella* presentes en las tortugas marinas, de tal manera que se pueda estudiar sobre posibles casos de zoonosis ocasionados por estos reptiles. La resistencia a los antibióticos es un tema relevante y de suma importancia en la actualidad, se ha descubierto bacterias resistentes a los antibióticos en el medio ambiente y en animales que no han estado expuestos ni han recibido tratamientos médicos (Garcês & Pires, 2023).

En los animales marinos, como en las tortugas marinas esta información sobre una posible aparición de resistencia antimicrobiana aún no está clara. La literatura menciona que los mares se ven afectados por desechos de la acuicultura, agrícolas, industriales, domésticos, áreas de la salud humana y veterinaria, granjas, agricultura, vertederos, acuicultura, plantas de tratamiento, de aguas residuales es donde las bacterias pueden encontrarse expuestas a dosis altas y repetidas de antibióticos causando a la larga que presentes resistencia a varios antibióticos (Gambino et al., 2022)

Por lo que la baja prevalencia de *Salmonella spp.* en tortugas marinas registrada en esta investigación, puede deberse a distintos factores como, una baja carga bacteriana en las muestras, limitaciones en las técnicas de análisis microbiológico, número de individuos muestreados, escasa interacción con ambientes contaminados o mínimo contacto con

personas (Fagre et al., 2020; Marin et al., 2022; Pees et al., 2023b).

Para finalizar, al ser la *Salmonella* una bacteria que ocasiona infecciones zoonóticas, la vigilancia epidemiológica es importante para conocer el estado de salud de poblaciones de tortugas marinas. La importancia de investigar sobre la resistencia a los antibióticos, que afecta tanto a los humanos, animales y medio ambiente. Cabe mencionar a “Una Sola Salud”, de tal manera que exista un equilibrio y optimizar la salud de los humanos, animales y del ecosistema.

CONCLUSIONES

- De acuerdo a las investigaciones realizadas sobre la presencia de *Salmonella spp.* en las distintas especies de tortugas marinas, sugiere que la prevalencia del 10.25% que se obtuvo en esta investigación es relativamente baja. Además, mediante el análisis microbiológico se determinó la presencia de *Salmonella spp.* en muestras de hisopado cloacal de dos individuos de tortuga verde (*Chelonia mydas*), por ende, se acepta la H0.
- Las medidas morfométricas de largo curvo y ancho curvo caparazón de los individuos, de los cuales se aisló *Salmonella*, no demostraron diferencia estadística significativa entre los casos positivos y negativos frente a la bacteria.
- La mayoría de las tortugas marinas muestreas fueron hembras de *Chelonia mydas*. Siendo la especie más común registrada la tortuga verde. Las muestras de una hembra y un macho de tortuga verde fueron los que dieron positivo a la presencia *Salmonella*.
- Si bien se registraron en este estudio *Chelonia mydas*, *Lepidochelys olivacea*, se consideró al individuo de *Chelonia mydas agassizii* como subespecie de *Chelonia mydas*. Esto de acuerdo a la literatura investigada, sin embargo, es un tema que todavía debe estudiarse.

RECOMENDACIONES

- Incentivar a estudiantes e investigadores a realizar investigaciones sobre patologías y enfermedades zoonóticas que afecten a las poblaciones de tortugas marinas y vida marina.
- Se recomienda complementar los métodos microbiológicos tradicionales para detección de *Salmonella spp.* y otros patógenos con técnicas moleculares para obtener más información sobre su material genético, además, realizar pruebas de resistencia antimicrobiana, tema que en la actualidad de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud es una de las principales amenazas que se enfrenta la salud pública, trabajando con el enfoque de una Sola Salud.
- Socializar e impartir charlas sobre enfermedades zoonóticas personal de áreas protegidas, estudiantes y comunidades costeras, para fomentar prácticas seguras en el manejo de fauna marina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre, A. A., Gardner, S. C., Marsh, J. C., Delgado, S. G., Limpus, C. J., & Nichols, W. J. (2006). Hazards associated with the consumption of sea turtle meat and eggs: A review for health care workers and the general public. In *EcoHealth* (Vol. 3, Issue 3, pp. 141–153). <https://doi.org/10.1007/s10393-006-0032-x>
- Ahasan, M. S., Waltzek, T. B., Huerlimann, R., & Ariel, E. (2018). Comparative analysis of gut bacterial communities of green turtles (*Chelonia mydas*) pre-hospitalization and post-rehabilitation by high-throughput sequencing of bacterial 16S rRNA gene. *Microbiological Research*, 207, 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.11.010>
- Ahmad Bhat, K., Manzoor, T., Ahmad Dar, M., Farooq, A., Ahmad Allie, K., Majeed Wani, S., Ahmad Dar, T., & Asghar Shah, A. (2022). *Salmonella* Infection and Pathogenesis. In *Enterobacteria*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.102061>
- Antonio Lino Villacreses, W. I., & Perozo Mena, A. I. (n.d.). *Factores de riesgo asociados a salmonella spp Risk factors associated with salmonella spp Factores de riesgo asociados a Salmonella spp*. 89, 1850–1865. <https://doi.org/10.23857/pc.v8i12.6798>
- Antonio, P., & Salazar, C. (2008). Las Tortugas Marinas y Nuestro Tiempo. In *Leyendo la Ciencia* (Vol. 18).
- Asfaw, T., Genetu, D., Shenkute, D., Shenkutie, T. T., Amare, Y. E., & Yitayew, B. (2022). Foodborne Pathogens and Antimicrobial Resistance in Ethiopia: An Urgent Call for Action on “One Health.” *Infection and Drug Resistance*, Volume 15, 5265–5274. <https://doi.org/10.2147/IDR.S375043>
- Bachmann, V. M., Blum, S. E., Itay, P., Fleker, M., Levy, Y., Tchernov, D., Meron, D., & Morick, D. (2025). Wild sea turtles as bioindicators of antibiotic exposure in the levantine basin. *Total Environment Microbiology*, 1(3), 100023. <https://doi.org/10.1016/j.temicr.2025.100023>
- BaroloméJO, M. (1952). La Tinción Gram. *Bacteriol Rev16*.
- Bhaskar Mahanayak. (2024). Ex-situ and in-situ conservation of wild life. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 18(3), 277–282. <https://doi.org/10.30574/wjbphs.2024.18.3.0371>
- Bjelland, A. M., Sandvik, L. M., Skarstein, M. M., Svendal, L., & Debenham, J. J. (2020). Prevalence of Salmonella serovars isolated from reptiles in Norwegian zoos. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 62(1). <https://doi.org/10.1186/s13028-020-0502-0>
- Bossart, G. D. (2011). Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. *Veterinary Pathology*, 48(3), 676–690. <https://doi.org/10.1177/0300985810388525>
- Bowen, b. W., & Karl, S. A. (2007). Population genetics and phylogeography of sea turtles. *Molecular Ecology*, 16(23), 4886–4907. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03542.x>
- Carrillo, B., Chavez, C., & Trueba, G. (2022). Surprising Absence of Antibiotic Resistance in Salmonella enterica Isolates from Galapagos Marine Iguanas (*Amblyrhynchus cristatus*). In A. Thompson, V. Ochoa-Herrera, & E. Teran (Eds.), *Water, Food and Human Health in the Galapagos, Ecuador, Social and Ecological Interactions in the Galapagos Islands*. (Springer, Charm, pp. 181–183).

- Castro Casal, A. (2016). *Manual de conservación y manejo de tortugas marinas para pescadores: Vol. XIII* (Asociación Chelonia). www.chelonia.es.
- Cisneros-Heredia, D. F. (2006). Turtles of the Tiputini Biodiversity Station with remarks on the diversity and distribution of the Testudines from Ecuador. *Biota Neotropica*, 6(1). <https://doi.org/10.1590/s1676-06032006000100011>
- Cota, J. B., Carvalho, A. C., Dias, I., Reisinho, A., Bernardo, F., & Oliveira, M. (2021). Salmonella spp. In pet reptiles in Portugal: Prevalence and chlorhexidine gluconate antimicrobial efficacy. *Antibiotics*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030324>
- Dickinson, B. (2013). Instrucciones de uso - medios en placa loistos para usar BD Salmonella Shigella Agar USO PREVISTO. *Diagnostic Systems*.
- Dutton, C. S., Revan, F., Wang, C., Xu, C., Norton, T. M., Stewart, K. M., Kaltenboeck, B., & Soto, E. (2013). Salmonella enterica prevalence in Leatherback Sea Turtles (*Dermochelys Coriacea*) in St. Kitts, West Indies. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 44(3), 765–768. <https://doi.org/10.1638/2012-0216R1.1>
- Ebani, V. V. (2017). Domestic reptiles as source of zoonotic bacteria: A mini review. In *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* (Vol. 10, Issue 8, pp. 723–728). Elsevier (Singapore) Pte Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.07.020>
- Ebani, V. V. (2023a). Bacterial Infections in Sea Turtles. In *Veterinary Sciences* (Vol. 10, Issue 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/vetsci10050333>
- Ebani, V. V. (2023b). Bacterial Infections in Sea Turtles. In *Veterinary Sciences* (Vol. 10, Issue 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/vetsci10050333>
- Eckert, K. L., Bjorndal, K. A., Abreu-Grobois, F. A., & Donnelly, M. (1999). *Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles* (F. A. Abreu-Grobois & M. Donnelly, Eds.). IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group No.4.
- Edwards, J. J., Amadi, V. A., Soto, E., Jay-Russel, M. T., Aminabadi, P., Kenelty, K., Charles, K., Arya, G., Mistry, K., Nicholas, R., Butler, B. P., & Marancik, D. (2021). Prevalence and phenotypic characterization of Salmonella enterica isolates from three species of wild marine turtles in Grenada, West Indies. *Veterinary World*, 14(1), 222–229. <https://doi.org/10.14202/VETWORLD.2021.222-229>
- Eng, S. K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N. S., Ser, H. L., Chan, K. G., & Lee, L. H. (2015). Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, 8(3), 284–293. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1051243>
- Erazo, S., Camacho, M. A., Zapata-Ríos, G., Salas, J. A., Rosero, P., Cisneros-Vidal, R., & Martín-Solano, S. (2022). *LINEAMIENTOS ÉTICOS Y PROCEDIMIENTOS PARA EL ESTUDIO Y MANEJO DE MAMÍFEROS SILVESTRES EN EL ECUADOR* (Murciélago Blanco, Ed.; Vol. 1). Asociación Ecuatoriana de Mastozoología y Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica del Ecuador.
- Erkmen, O. (2021). Gram staining technique. In *Laboratory Practices in Microbiology* (pp. 99–105). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91017-0.00028-7>
- Fagre, A. C., Pabilonia, K. L., Johnston, M. S., Morley, P. S., & Burgess, B. A. (2020). Comparison of detection methods for Salmonella enterica shedding among reptilian patients

- at a veterinary teaching hospital. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 32(1), 118–123. <https://doi.org/10.1177/1040638719886542>
- Fichi, G., Cardeti, G., Cersini, A., Mancusi, C., Guarducci, M., Di Guardo, G., & Terracciano, G. (2016). Bacterial and viral pathogens detected in sea turtles stranded along the coast of Tuscany, Italy. *Veterinary Microbiology*, 185, 56–61. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.02.003>
- FIP BLUES, B. S. S. E. S. L. (2023). *Manipulación y liberación segura de tortugas marinas, Manual de Buenas Prácticas*.
- Franco, A., Hendriksen, R. S., Lorenzetti, S., Onorati, R., Gentile, G., Dell’Omo, G., Aarestrup, F. M., & Battisti, A. (2011). Characterization of salmonella occurring at high prevalence in a population of the land iguana *conolophus subcristatus* in Galápagos Islands, Ecuador. *PLoS ONE*, 6(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023147>
- Fuentes, M. M. P. B., McMichael, E., Kot, C. Y., Silver-Gorges, I., Wallace, B. P., Godley, B. J., Brooks, A. M. L., Ceriani, S. A., Cortés-Gómez, A. A., Dawson, T. M., Dodge, K. L., Flint, M., Jensen, M. P., Komoroske, L. M., Kophamel, S., Lettrich, M. D., Long, C. A., Nelms, S. E., Patricio, A. R., ... Hays, G. C. (2023). Key issues in assessing threats to sea turtles: knowledge gaps and future directions. In *Endangered Species Research* (Vol. 52, pp. 303–341). Inter-Research. <https://doi.org/10.3354/ESR01278>
- Gaillot, O., Di Camillo, P., Berche, P., Courcol, R., & Savage, C. (1999). Comparison of CHROMagar Salmonella Medium and Hektoen Enteric Agar for Isolation of Salmonellae from Stool Samples. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 37 No.3(3), 762–765.
- Gambino, D., Savoca, D., Sucato, A., Gargano, V., Gentile, A., Pantano, L., Vicari, D., & Alduina, R. (2022). Occurrence of Antibiotic Resistance in the Mediterranean Sea. *Antibiotics*, 11(3), 332. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030332>
- Garcês, A., & Pires, I. (2023). Bad Waters: Antibiotic Resistance Bacteria in Sea Turtles. *JOURNAL OF FISHERIES AND ENVIRONMENT*, 47.
- Geue, L., & Löschner, U. (2002). Salmonella enterica in reptiles of German and Austrian origin. *Veterinary Microbiology*, 84(1–2), 79–91. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00437-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00437-0)
- González, E. (2010). *Manual de bioseguridad para el manejo de tortugas marinas en el Centro de Conservación de Fauna Silvestre en las instalaciones de Parque Vereda del Lago*.
- González Pedraza, J., Pereira Sanandres, N., Soto Varela, Z., Hernández Aguirre, E., & Villareal Camacho, J. (2014). *Aislamiento microbiológico de Salmonella spp. y herramientas moleculares para su detección*.
- Gustavo Iturralde Muñoz, Manuel Bravo, & Roddy Macías. (2020). *Plan de Acción para la Conservación de Tortugas Marinas en Ecuador 2021 - 2030: Resolución N° MAE-SPN-2021-001*.
- Gutiérrez Cogco, L., Montiel Vázquez, E., Aguilera Pérez, P., & González Andrade, M. del C. (2000). Serotipos de Salmonella identificados en los servicios de salud de México. *Salud Pública de México*, 42.
- Ives, A. K., Antaki, E., Stewart, K., Francis, S., Jay-Russell, M. T., Sithole, F., Kearney, M. T., Griffin, M. J., & Soto, E. (2017). Detection of Salmonella enterica Serovar Montevideo and

- Newport in Free-ranging Sea Turtles and Beach Sand in the Caribbean and Persistence in Sand and Seawater Microcosms. *Zoonoses and Public Health*, 64(6), 450–459.
<https://doi.org/10.1111/zph.12324>
- Jaramillo Arango, C. J., & Martínez Maya, J. J. (2010). *Epidemiología veterinaria* (J. L. Morales Saavedra, Ed.; El Manual Moderno).
- J.E.L. Corry, & et al. (2003). *Handbook of Culture Media for Food Microbiology Hektoen Enteric (HE) agar* (Elsevier Science B.V., Ed.).
- Jung, B., & Gilles J. Hoilat. (2024, September 10). MacConckey Medium. *StatPearls (Internet)*.
- Karl, S. A., & Bowen, B. W. (1999). Evolutionary Significant Units versus Geopolitical Taxonomy: Molecular Systematics of an Endangered Sea Turtle (genus *Chelonia*). *Conservation Biology*, 13(5), 990–999. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1999.97352.x>
- Kotera, M. M., Phillott, A. D., Patel, E., & Kotera, M. (2022). *The roles of sea turtles in ecosystem processes and services*. <https://www.researchgate.net/publication/363862278>
- Lanci, A. K. J., Roden, S. E., Bowman, A., LaCasella, E. L., Frey, A., & Dutton, P. H. (2012). Evaluating Buccal and Cloacal Swabs for Ease of Collection and Use in Genetic Analyses of Marine Turtles. *Chelonian Conservation and Biology*, 11(1), 144–148.
<https://doi.org/10.2744/CCB-0950.1>
- LeLièvre, V., Besnard, A., Schlüsselhuber, M., Desmasures, N., & Dalmasso, M. (2019). Phages for biocontrol in foods: What opportunities for Salmonella sp. control along the dairy food chain? In *Food Microbiology* (Vol. 78, pp. 89–98). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.10.009>
- Lesley. (2008a). *SOUTHEAST FISHERIES SCIENCE CENTER SEA TURTLE RESEARCH TECHNIQUES MANUAL*.
- Lesley. (2008b). *SOUTHEAST FISHERIES SCIENCE CENTER SEA TURTLE RESEARCH TECHNIQUES MANUAL*.
- Libenson, L., & Mcilroy, A. P. (n.d.). *ON THE MECHANISM OF THE GRAM STAIN*.
<http://jid.oxfordjournals.org/>
- Marin, C., Martín-Maldonado, B., Cerdà-Cuéllar, M., Sevilla-Navarro, S., Lorenzo-Rebenaque, L., Montoro-Dasi, L., Manzanares, A., Ayats, T., Mencía-Gutiérrez, A., Jordá, J., González, F., Rojo-Solís, C., Barros, C., García-Párraga, D., & Vega, S. (2022). Antimicrobial Resistant Salmonella in Chelonians: Assessing Its Potential Risk in Zoological Institutions in Spain. *Veterinary Sciences*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/vetsci9060264>
- MCD LAB. (n.d.). *Ficha Técnica, Agar Entérico Hektoen*.
- Mestanza-Ramón, C., Henkanaththegedara, S. M., Duchicela, P. V., Tierras, Y. V., Capa, M. S., Mejía, D. C., Gutierrez, M. J., Guamán, M. C., & Ramón, P. M. (2020). In-situ and ex-situ biodiversity conservation in Ecuador: A review of policies, actions and challenges. In *Diversity* (Vol. 12, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/D12080315>
- Ministerio del Ambiente y Agua del Ecuador, WildAid Inc., Cooperación Técnica Alemana - GIZ, & Proyecto Conservación de Tortugas Marinas en la Costa de Ecuador. (2020). *Plan de Acción para la Conservación de las Tortugas Marinas 2021-2030*.

- Mitchell, M. A., & Shane, S. M. (2001). Salmonella in reptiles. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 10(1), 25–35. <https://doi.org/10.1053/saep.2001.19798>
- Mondragon, V. G., Moreno, N. J., Sánchez, L. L., & Gomez, A. P. (2022). Microbiological and molecular techniques for the identification of Salmonella sp in the poultry industry: a systematic scoping review. In *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru* (Vol. 33, Issue 6). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. <https://doi.org/10.15381/rivep.v33i6.21268>
- Mora, X. (2012). Diferenciando Bacterias Gram+ y Gram-. *Selecciones Avícolas*, 25–27.
- Muslin, C., Salas-Brito, P., Coello, D., Morales-Jadán, D., Viteri-Dávila, C., & Coral-Almeida, M. (2025). Salmonella prevalence and serovar distribution in reptiles: a systematic review and meta-analysis. *Gut Pathogens*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s13099-025-00699-z>
- Neyaz, L. A., Alghamdi, H. S., Alghashmari, R. M., Alswat, S. S., Almaghrabi, R. O., Bazaid, F. S., Albarakaty, F. M., Elbanna, K., & Abulreesh, H. H. (2024). A comprehensive review on the current status of culture media for routine standardized isolation of Salmonella and Shigella spp. from contaminated food. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s43994-024-00205-2>
- Ostertagová, E., Ostertag, O., & Kováč, J. (2014). Methodology and application of the Kruskal-Wallis test. *Applied Mechanics and Materials*, 611, 115–120. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.611.115>
- Paray, A. A., Singh, M., & Amin Mir, M. (2023). Gram Staining: A Brief Review. *International Journal of Research and Review*, 10(9), 336–341. <https://doi.org/10.52403/ijrr.20230934>
- Pasman, F., Martel, A., & Jacobson, E. R. (2021). “Bacterial diseases of reptiles”, in *Infectious diseases and Pathology of reptiles* (E. R. Jacobson & M. M. Garner, Eds.; 2nd ed.).
- Pees, M., Brockmann, M., Steiner, N., & Marschang, R. E. (2023a). Salmonella in reptiles: a review of occurrence, interactions, shedding and risk factors for human infections. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (Vol. 11). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1251036>
- Pérez Caamaño, N., Elu Escalante, M., Berrocal Elu, A., Pedragosa González, V., Candala Ramírez, D., & Sánchez Barrón, G. (2021, February 10). Técnicas de detección y diagnóstico de salmonella spp. *Revista Sanitaria de Investigación*.
- Pritchard, P. P., Bancon, F., Berry, A., Carr, J., Fletemeyer, R., Gallagher, S., Hopkins, R., Lankford, R., Márquez, M., L., Ogren, W., Pringle, Jr., Reichart, H., & Witham, R. (1999). Taxonomy, External Morphology, and Species Identification. *Manual of Sea Turtles Research and Conservation Techniques*.
- Raidal, S., Ohara, M., Hobbs, R., & Prince, R. (1998). *Gram-negative bacterial infections and cardiovascular parasitism in green turtles (Chelonia mydas)*.
- Registro Oficial 746. (1988). *Convención sobre Comercio Internacional de Especies Amenazadas*. www.lexis.com.ec
- Remel Technical Manual of Microbiological Media. (2010). *Stuart Transport Medium*.

- Reséndiz, E., & Fernández-Sanz, H. (2021). Identificación bioquímica de bacterias potencialmente patógenas y zoonóticas en las tortugas negras (*Chelonia mydas*) del Pacífico mexicano. *Abanico Veterinario*, 11. <https://doi.org/10.21929/abavet2021.19>
- Rosero, P. (2018). *PROTOCOLO DE RESPUESTA A VARAMIENTOS DE ESPECIES MARINAS EN ECUADOR*. <https://www.researchgate.net/publication/336722056>
- Ruiz, M. J., Ramallo, G., Colello, R., Villalobo, C., Monteavaro, C., Etcheverría, A., & Padola, N. L. (2018). Diferentes métodos para aislamiento y detección de *Salmonella* spp. en canales porcinos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(2), 117–123. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n2.71680>
- Ryan, M. P., O'Dwyer, J., & Adley, C. C. (2017). Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen *Salmonella*. In *BioMed Research International* (Vol. 2017). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2017/3782182>
- Sakaguchi, K., Nevarez, J. G., & Del Piero, F. (2017). *Salmonella* Enterica Serovar Pomona Infection in Farmed Juvenile American Alligators (*Alligator Mississippiensis*). *Veterinary Pathology*, 54(2), 316–319. <https://doi.org/10.1177/0300985816677149>
- Seoane, T., Martín, J. L. R., Martín-Sánchez, E., Lurueña-Segovia, S., & Alonso Moreno, F. J. (2007). Capítulo 5: Selección de la muestra: técnicas de muestreo y tamaño muestral. *SEMERGEN - Medicina de Familia*, 33(7), 356–361. [https://doi.org/10.1016/S1138-3593\(07\)73915-1](https://doi.org/10.1016/S1138-3593(07)73915-1)
- SHUGAR, D., & BARANOWSKA, J. (1954). Studies on the gram stain; the importance of proteins in the Gram reaction. *Acta Microbiologica Polonica* (1952), 3(1), 11–20.
- Sodagari, H. R., Habib, I., Shahabi, M. P., Dybing, N. A., Wang, P., & Bruce, M. (2020). A review of the public health challenges of salmonella and turtles. In *Veterinary Sciences* (Vol. 7, Issue 2). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/VETSCI7020056>
- Stec, J., Kosikowska, U., Mendrycka, M., Stępień-Pyśniak, D., Niedźwiedzka-Rystwej, P., Bębnowska, D., Hryniewicz, R., Ziętara-Wysocka, J., & Grywalska, E. (2022). Opportunistic Pathogens of Recreational Waters with Emphasis on Antimicrobial Resistance—A Possible Subject of Human Health Concern. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(12), 7308. <https://doi.org/10.3390/ijerph19127308>
- Tauxe, R. V. (1997). *Emerging Foodborne Diseases: An Evolving Public Health Challenge*.
- Thilakarathne, E. P. D. N., Lakmini, W. A. S. W., Egodaayana, K. P. U. T., Bandara, T., Srimali, A. B. K. M., Ramawickrama, N. W., Maldeniya, M. U. S., & Coswatte, A. C. W. W. M. C. L. K. (2024). Sea Turtles are at Risk: Unraveling the Major Threats and Conservation Challenges Encountered by Sea Turtles in Southern Sri Lanka. *Ocean Science Journal*, 59(3). <https://doi.org/10.1007/s12601-024-00159-w>
- Tripathi, N., & Sapra, A. (2025). Gram Staining. *StatPearls (Internet)*.
- Varela, N., Ukumarí, B., López, A. L., Parra Ochoa, E., & Camilo Gómez, J. (n.d.). *Manual de Bioseguridad para el Manejo de Fauna Silvestre, Exótica y no Convencional*. <https://doi.org/10.13140/2.1.2886.9761>

- Vivaldo, G., Márquez, G., Sarabia, O., García, V., & Casas, C. (2008). *Patología de las tortugas marinas (Lepidochelys olivacea) que arribaron a las playas de Cuyutlán, Colima, México.*
- Wilson, E. G., Allison, D., & And Magliocca, M. (n.d.). *WHY HEALTHY OCEANS NEED SEA TURTLES: THE IMPORTANCE OF SEA TURTLES TO MARINE ECOSYSTEMS.*
- Work, T. M., Dagenais, J., Stacy, B. A., Ladner, J. T., Lorch, J. M., Balazs, G. H., Barquero-Calvo, E., Berlowski-Zier, B. M., Breeden, R., Corrales-Gómez, N., Gonzalez-Barrientos, R., Harris, H. S., Hernández-Mora, G., Herrera-Ulloa, Á., Hesami, S., Jones, T. T., Morales, J. A., Norton, T. M., Rameyer, R. A., ... Waltzek, T. B. (2019). A novel host-adapted strain of *Salmonella Typhimurium* causes renal disease in olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) in the Pacific. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45752-5>
- Zahraa A. Al-Jaberi, & Dunya AH AI-Abbawy. (2023). Assessing the Microbial Safety of Drinking Water in Basrah Province: A study of Three Water Treatment Plants. *Ninth National Conference on the Environment and Natural Resources*. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1215/1/012056>
- Zajaç, M., Skarżyńska, M., Lalak, A., Kwit, R., Śmiałowska-Węglińska, A., Pasim, P., Szulowski, K., & Wasyl, D. (2021). *Salmonella* in captive reptiles and their environment—can we tame the dragon? *Microorganisms*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051012>

ANEXOS

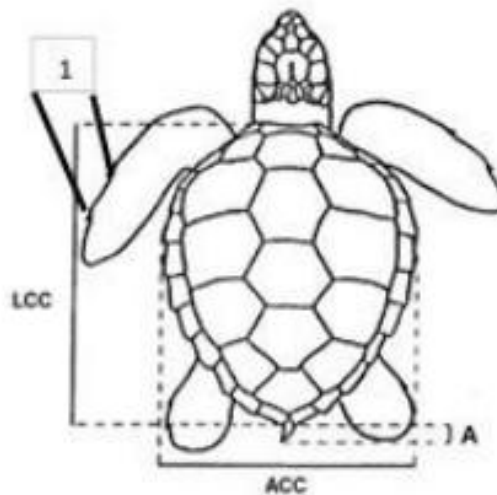
Anexo 1. Ficha de registro identificación de *Salmonella spp.* tortugas marinas

Ficha de Registro identificación de *Salmonella spp.* en tortugas marinas sitios de influencia de la REMACOPSE

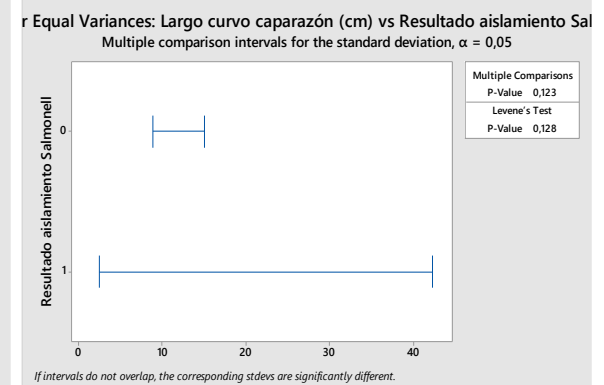
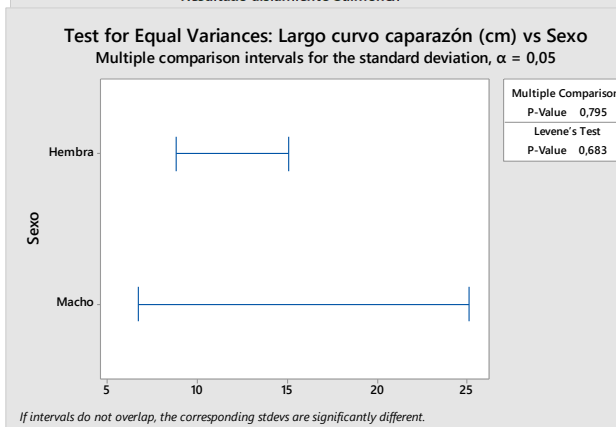
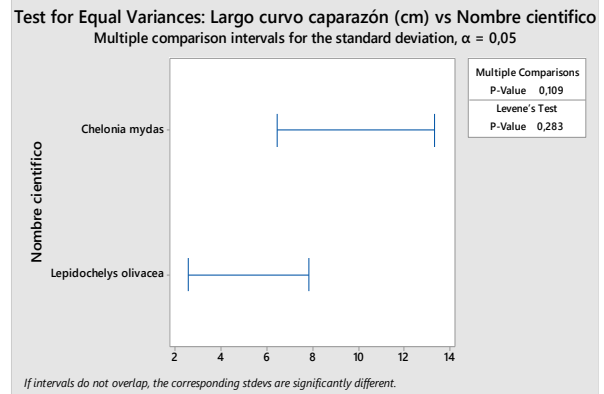
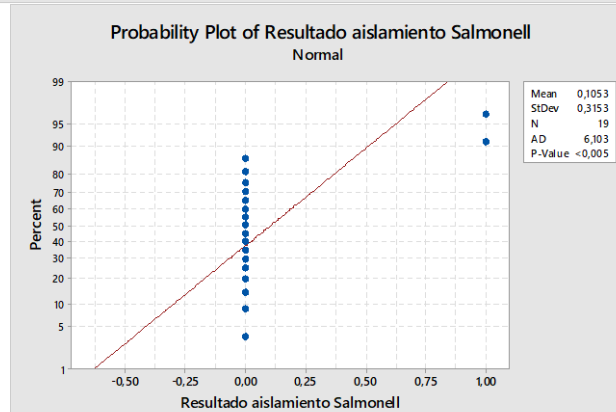
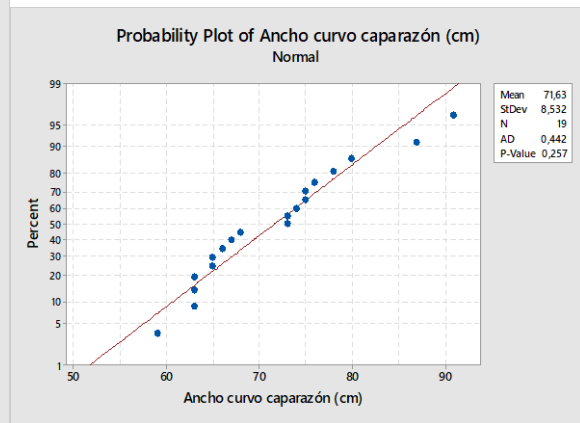
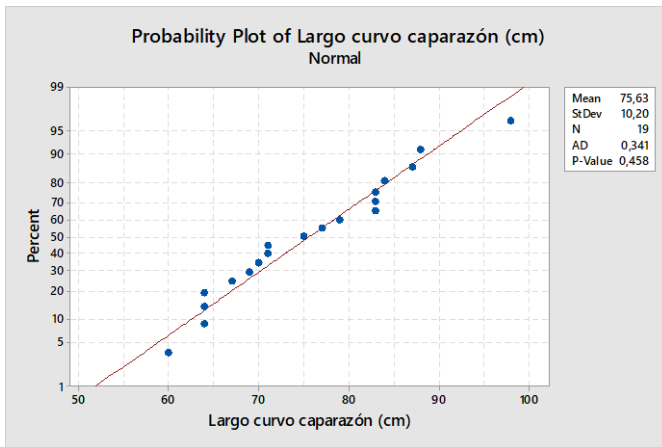
Ficha No.

Código de muestra:

Fecha:	Sitio:
Nombre común:	Nombre científico:
Sexo:	Edad:
Hembra: Macho:	Juvenil: Adulto:



Anexo 2. Análisis de normalidad y homocedasticidad realizado en el programa MINITAB 19.0



Anexo 3. Análisis Kruskal - Wallis realizado en el programa MINITAB 19.0

Kruskal-Wallis Test: Resultado aislam versus Nombre científico

Kruskal-Wallis Test on Resultado aislamiento Salmonell

Nombre científico	N	Median	Ave Rank	Z
Chelonia agassizii	1	0,000000000	9,0	-0,18
Chelonia mydas	12	0,000000000	10,6	0,59
Lepidochelys olivacea	6	0,000000000	9,0	-0,53
Overall	19		10,0	

H = 0,35 DF = 2 P = 0,839
H = 1,24 DF = 2 P = 0,539 (adjusted for ties)

* NOTE * One or more small samples

Kruskal-Wallis Test: Resultado aislamiento Salmonell versus Sexo

Kruskal-Wallis Test on Resultado aislamiento Salmonell

Sexo	N	Median	Ave Rank	Z
Hembra	15	0,000000000	9,6	-0,55
Macho	4	0,000000000	11,4	0,55
Overall	19		10,0	

H = 0,30 DF = 1 P = 0,582
H = 1,07 DF = 1 P = 0,301 (adjusted for ties)

* NOTE * One or more small samples

Kruskal-Wallis Test: Resultado aislam versus Largo curvo capa

Kruskal-Wallis Test on Resultado aislamiento Salmonell

Largo curvo caparazón (cm)	N	Median	Ave Rank	Z
60	1	0,000000000	9,0	-0,18
64	3	0,000000000	9,0	-0,34
67	1	0,000000000	9,0	-0,18
69	1	0,000000000	9,0	-0,18
70	1	0,000000000	9,0	-0,18
71	2	0,000000000	9,0	-0,27
75	1	1,000000000	18,5	1,55
77	1	1,000000000	18,5	1,55
79	1	0,000000000	9,0	-0,18
83	3	0,000000000	9,0	-0,34
84	1	0,000000000	9,0	-0,18
87	1	0,000000000	9,0	-0,18
88	1	0,000000000	9,0	-0,18
98	1	0,000000000	9,0	-0,18
Overall	19		10,0	

H = 5,10 DF = 13 P = 0,973
H = 18,00 DF = 13 P = 0,158 (adjusted for ties)

* NOTE * One or more small samples

Kruskal-Wallis Test: Resultado aislam versus Ancho curvo capa

Kruskal-Wallis Test on Resultado aislamiento Salmonell

Ancho curvo caparazón (cm)	N	Median	Ave Rank	Z
59	1	0,000000000	9,0	-0,18
63	3	0,000000000	9,0	-0,34
65	2	0,000000000	9,0	-0,27
66	1	0,000000000	9,0	-0,18
67	1	0,000000000	9,0	-0,18
68	1	0,000000000	9,0	-0,18
73	2	1,000000000	18,5	2,26
74	1	0,000000000	9,0	-0,18
75	2	0,000000000	9,0	-0,27
76	1	0,000000000	9,0	-0,18
78	1	0,000000000	9,0	-0,18
80	1	0,000000000	9,0	-0,18
87	1	0,000000000	9,0	-0,18
91	1	0,000000000	9,0	-0,18
Overall	19		10,0	

H = 5,10 DF = 13 P = 0,973
H = 18,00 DF = 13 P = 0,158 (adjusted for ties)

* NOTE * One or more small samples



Fotografía 1. Tortuga marina anidadora regresando a su hábitat posteriormente de haber realizado actividades de desove y cubrimiento de nido y de haber recolectado la muestra y registro datos morfométricos por la investigadora.



Fotografía 2. Toma de muestras de hisopado cloacal.



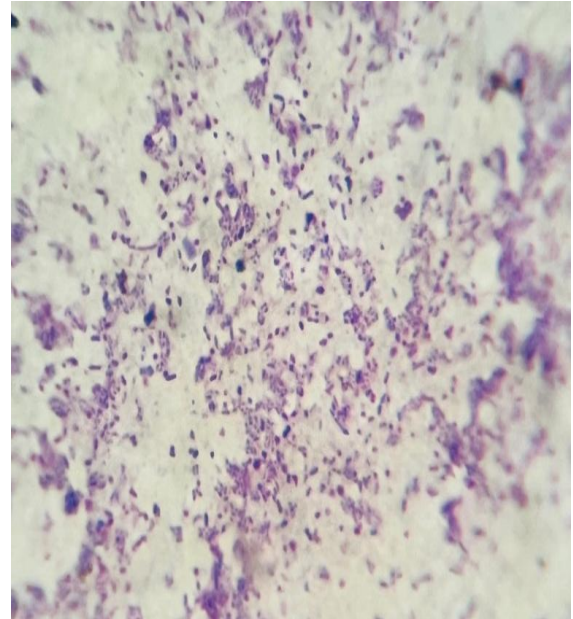
Fotografía 3. Registro medidas morfológicas del caparazón.



Fotografía 4. Reintroducción del espécimen a su hábitat natural.



Fotografía 5. Colonias negras características de *Salmonella spp.* en medio de cultivo *Salmonella Shigella*.



Fotografía 6. Observación tinción Gram en microscopio, bacilos Gram negativos.