



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

***RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE
Enterobacter spp., Pseudomonas spp. Y Klebsiella spp. DEL
TRACTO RESPIRATORIO EN TORTUGAS MOTEOLO
(Chelonoidis denticulata)***

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE MÉDICA VETERINARIA**

AUTORAS: ISIS ALESSA JUMBO MOTOCHÉ

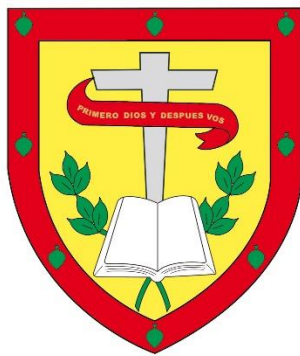
MARÍA BELÉN GARCÍA COOFRE

DIRECTORA: MV. ANDREA VIVIANA ESPINOSA. MSC

CUENCA-ECUADOR

2026

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

***RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE
Enterobacter spp., Pseudomonas spp. Y Klebsiella spp. DEL
TRACTO RESPIRATORIO EN TORTUGAS MOTELO
(Chelonoidis denticulata)***

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE MÉDICA VETERINARIA**

AUTORAS: ISIS ALESSA JUMBO MOTOCHÉ

MARÍA BELÉN GARCÍA COOFRE

DIRECTORA: MV. ANDREA VIVIANA ESPINOSA. MSC

CUENCA-ECUADOR

2026

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

DECLARATORIA DE AUTORÍA Y RESPONSABILIDAD

Isis Alessa Jumbo Motoche portadora de la cédula de ciudadanía N° **0706205903** y **María Belén García Coofre** portadora de la cédula de ciudadanía N° **0751024613**. Declaramos ser las autoras de la obra: “**Resistencia antimicrobiana de cepas de *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp.* y *Klebsiella spp.* del tracto respiratorio en tortugas motelo (*Chelonoidis denticulata*)**”, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **01 de octubre de 2026**



F:

Isis Alessa Jumbo Motoche

C.I. 0706205903



F:

María Belén García Coofre

C.I. 0751024613

Certificación

Yo **Andrea Espinosa Carrión** con cédula de identidad 1714962923 en calidad de director del Trabajo de Titulación con el tema: "**Resistencia antimicrobiana de cepas de *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp.* y *Klebsiella spp.* del tracto respiratorio en tortugas motelo (*Chelonoidis denticulata*)**", certifico que el presente trabajo fue desarrollado por **Isis Alessa Jumbo Motoche** y **María Belén García Coofre**, bajo mi supervisión.

Atentamente,



Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
**ANDREA VIVIANA
ESPINOSA CARRION**

MVZ. ANDREA VIVIANA ESPINOSA CARRIÓN MSc.
DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN
DOCENTE DE LA CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

AGRADECIMIENTO

Agradecemos de manera especial al Bioparque Amaru, especialmente al Mvz. Santiago Cárdenas Maldonado, por la apertura, disposición y colaboración brindadas durante el desarrollo de esta investigación. De igual manera, extendemos nuestra gratitud al Centro de Investigación, Innovación y Transferencia de Tecnología (CIITT) por el respaldo brindado durante el proceso investigativo, así como por la disponibilidad de sus instalaciones y recursos, que contribuyeron de significativamente al desarrollo de los procedimientos necesarios para la realización de este proyecto.

Este trabajo es el resultado del esfuerzo conjunto con la Universidad Católica de Cuenca, de los cuales al personal docente extendemos nuestra gratitud por su apertura. Especialmente a nuestra tutora Mvz. Andrea Viviana Espinosa Carrión MSc por su guía, dedicación y valiosas aportaciones a lo largo de este proyecto, y al Ing. Manuel Maldonado, por su colaboración y apoyo durante el desarrollo de la investigación.

DEDICATORIA

“Con todo mi amor y gratitud, dedico este trabajo a mi familia y amigos, quienes han sido una parte fundamental de mi vida y de este camino. Gracias por acompañarme en cada etapa, por su apoyo y por hacer de este recorrido una experiencia llena de aprendizajes, recuerdos y momentos que permanecerán siempre en mi corazón.

A mi mamá, Janet, mi guía y una de las mayores razones para seguir adelante. Gracias por cada enseñanza, por tu amor incondicional y por estar a mi lado en los momentos en que más lo necesitaba. Tus palabras, tu esfuerzo y tu confianza en mí han sido una fuerza constante para alcanzar este logro.

A mi papá, Carlos, quien sigue presente en cada parte de mi vida y, especialmente, en cada uno de mis logros. Tu recuerdo vive en mi corazón y me acompaña en cada día. Me habría gustado poder compartir este momento contigo, pero sé que, desde donde estés, estarías orgulloso de verme llegar hasta aquí. Este logro también es para ti.

A mis hermanos, Anahí, Gabriela, Gabriel y Matías, por ser parte importante de mi vida, por su cariño y por todos los momentos compartidos. Y a mis mascotas Luna y Khai, por su amor incondicional y su compañía en esta etapa”.

– **Con cariño, Isis Alessa Jumbo Motoche**

“Dedico este trabajo, en primer lugar, a Dios, por guiarme, darme fortaleza y acompañarme durante cada paso de este camino, especialmente en aquellos momentos en los que sentí que no podía continuar. A mis padres, por ser pilares fundamentales en mi vida, por su amor incondicional, su apoyo constante y por creer siempre en mí. Gracias por cada palabra de aliento, cada consejo, cada sacrificio y por estar presentes en cada etapa de este proceso; este logro también es fruto de todo lo que me han enseñado y del amor que me han brindado.

A mi pareja, Santiago Fernández, por acompañarme durante este camino, por su apoyo, comprensión y por compartir conmigo tantos momentos de esfuerzo y aprendizaje. Gracias por estar a mi lado y por ser parte de este sueño que hoy puedo ver cumplido.

Y, de manera muy especial, a mi hijo Thiago, mi mayor inspiración y la razón que me motivó a seguir adelante aun en los momentos de cansancio y dificultad. Su amor, sus sonrisas y su existencia me recordaron cada día por qué valía la pena luchar por mis sueños. Este logro es también para él, con la esperanza de que algún día pueda saber que fue una de las razones más bonitas que tuve para no rendirme”.

– **Con cariño, María Belén García Coofre**

ÍNDICE

Declaratoria De Autoría Y Responsabilidad	III
Certificación	IV
Agradecimiento.....	V
Dedicatoria.....	VI
Resumen.....	8
Abstract.....	9
Objetivo Del Estudio	10
Hipótesis	10
Introducción	11
Materiales Y Métodos.....	14
Resultados.....	18
Características De La Población De Estudio	18
Aislamiento E Identificación Bacteriana	19
Susceptibilidad De Antibióticos	19
Distribución De Los Perfiles De Susceptibilidad.	20
Discusión	21
Conclusiones	24
Referencias Bibliográficas.....	26

RESUMEN

La resistencia antimicrobiana (RAM) representa un problema para la salud animal y la conservación de especies silvestres. La falta de información sobre la susceptibilidad de las bacterias en quelonios genera el uso empírico de antimicrobianos. El objetivo de este estudio fue evaluar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* y *Pseudomonas spp.* aisladas del tracto respiratorio superior de tortugas motelo (*Chelonoidis denticulata*), mantenidas en conservación ex situ en el Bioparque Amaru. Se obtuvieron muestras de once tortugas mediante lavado nasal para después ser cultivadas en medios selectivos. La identificación bacteriana se realizó a través de pruebas bioquímicas y espectrometría de masas MALDI-TOF. La susceptibilidad antimicrobiana se determinó mediante el método de difusión en disco de Kirby-Bauer según los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). En ocho muestras se identificó la presencia de *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*. Se evidenció que el 75% de los aislados fueron resistentes o presentaron sensibilidad intermedia a amikacina y ciprofloxacina, y el 62,5% a enrofloxacin, con una diferencia estadística significativa según el antibiótico ($p=0,001278$). La *Enterobacter hormaechei* fue uniformemente resistente a la amikacina, pero con sensibilidad variables a la enrofloxacin y ciprofloxacina, mientras que ambas especies de *Pseudomonas* fueron las únicas que conservaron una sensibilidad completa o intermedia. Se concluye que la realización de antibiogramas previo a un tratamiento favorece el uso adecuado de antimicrobianos. Se recomienda fortalecer la vigilancia microbiológica, ampliar el tamaño de la muestra e incorporar técnicas moleculares para detectar genes de resistencia en futuros estudios.

Palabras claves

Quelonio, Kirby-Bauer, Resistencia antimicrobiana, Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae

ABSTRACT

Antimicrobial resistance (AMR) represents a problem for animal health and the conservation of wild species. The lack of information on bacterial susceptibility in chelonians leads to the empirical use of antimicrobials. This study aimed to evaluate the antimicrobial susceptibility profile of *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., and *Pseudomonas* spp. strains isolated from the upper respiratory tract of yellow-footed tortoises (*Chelonoidis denticulata*), maintained in ex situ conservation at the Amaru Biopark. Samples were obtained from eleven turtles via nasal washing and then cultured on selective media. Bacterial identification was performed through biochemical tests and MALDI-TOF mass spectrometry. Antimicrobial susceptibility was determined using the Kirby-Bauer disk diffusion method according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) criteria. Eight samples contained *Enterobacter*, *Klebsiella*, and *Pseudomonas*. It was found that 75% of the isolates were resistant or showed intermediate susceptibility to amikacin and ciprofloxacin, and 62.5% to enrofloxacin, with a statistically significant difference by antibiotic ($p=0.001278$). *Enterobacter hormaechei* was uniformly resistant to amikacin, but showed variable susceptibility to enrofloxacin and ciprofloxacin, while both *Pseudomonas* species were the only ones that showed complete or intermediate susceptibility. It is concluded that performing susceptibility testing before treatment promotes appropriate antimicrobial use. It is recommended to strengthen microbiological surveillance, increase the sample size, and incorporate molecular techniques to detect resistance genes in future studies.

Keywords

Chelonian, *Kirby-Bauer*, *antimicrobial resistance*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*

OBJETIVO DEL ESTUDIO

Evaluar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp.* y *Klebsiella spp.* aisladas del tracto respiratorio de tortugas motelo mantenidas en conservación ex situ, y describir su distribución según las características de los animales evaluados.

HIPÓTESIS

Las tortugas motelo (*Chelonoidis denticulata*) del Bioparque Amaru presentan resistencia antimicrobiana a al menos uno de los antibióticos de mayor uso clínico: enrofloxacin, amikacina o ciprofloxacina

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la resistencia a los antimicrobianos (RAM) constituye una de las mayores amenazas para la salud pública, la sanidad animal y la conservación de la biodiversidad a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud reconoce que la disminución progresiva de la eficacia de los antibióticos compromete la capacidad de prevenir y tratar enfermedades infecciosas, aumentando la mortalidad, costos sanitarios y el riesgo de propagación de microorganismos resistentes entre los animales, humanos y el ambiente (World Health Organization, 2026).

En este contexto, actualmente el enfoque One Health es la estrategia más aceptada para abordar la resistencia a los antibióticos desde una perspectiva integral. Este modelo unifica la participación equitativa de la salud humana, animal y el medio ambiente, en la prevención y control de los patrones de susceptibilidad antimicrobiana (Deem & Brenn-White, 2020).

En fauna silvestre, la presencia de bacterias multirresistentes, puede convertirse en un reservorio de genes de resistencia capaces de transmitirse entre microorganismos ambientales, animales y humanos, motivo por el cual es primordial el estudio de la RAM dentro de las políticas de conservación y la salud pública (Lorenz *et al.*, 2023).

Dentro de la medicina veterinaria, los reptiles representan un grupo de interés creciente debido al aumento de programas de conservación ex situ y al desarrollo de investigaciones sobre enfermedades infecciosas. La selección de un plan terapéutico en reptiles representa un desafío mayor debido a las particularidades anatómicas, fisiológicas, metabólicas y conductuales propias de este grupo las cuales influyen en la farmacocinética y farmacodinamia de los medicamentos (Cristina *et al.*, 2022; Lazarkevich *et al.*, 2024).

Además, la escasez de estudios clínicos y farmacológicos específicos limita la información sobre la eficacia y seguridad de los antimicrobianos en reptiles, teniendo como consecuencia extrapolar tratamientos desarrollados para otras especies como los mamíferos y aves (Hedley *et al.*, 2021).

En la clínica, las dosis y los esquemas terapéuticos suelen adaptarse a protocolos descritos para otras especies, lo que puede conducir al uso inadecuado o prolongado de antibióticos. Esta práctica incrementa la aparición y diseminación de microorganismos resistentes (Yeh *et al.*, 2022).

Aunque una parte importante de la microbiota bacteriana de los reptiles está constituida por microorganismos comensales, las infecciones clínicas son causadas

principalmente por bacterias Gram negativas oportunistas, reconocidas por su elevada capacidad para adquirir mecanismos de resistencia y dificultar el tratamiento antimicrobiano (Liu *et al.*, 2025).

Entre los reptiles terrestres de importancia ecológica está presente la tortuga motelo (*Chelonoidis denticulata*), especie ampliamente distribuida en los bosques tropicales de Sudamérica y es considerada un componente fundamental debido a su participación en la dispersión de semillas y la conservación de los ecosistemas forestales. En el Ecuador, esta problemática se ve agravada por la presión antrópica asociada al tráfico y la tenencia ilegal de fauna silvestre. Para el año de 2025, se reportó el rescate de 462 ejemplares de vida silvestre, de los cuales 4,76% corresponden a tortugas motelo (PCFVS, 2025). Este dato evidencia la vulnerabilidad de la especie frente a actividades humanas y su frecuente ingreso a sistemas de manejo ex situ.

Las enfermedades respiratorias constituyen una de las principales causas de morbilidad en quelonios mantenidos en cautiverio. Factores como el estrés, confinamiento, condiciones ambientales y el manejo pueden predisponer la aparición de infecciones oportunistas causadas por bacterias Gram negativas principalmente de las familias *Pseudomonadaceae* y *Enterobacteriaceae* (Schumacher, 2003; Tracchia, 2018).

La Gram negativas como *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.* y *Enterobacter spp.*, poseen una elevada capacidad de adaptación y diversos mecanismos de resistencia, dificultando el protocolo terapéutico e incrementando el riesgo del aumento en la resistencia de antibióticos (Yeh *et al.*, 2022).

Cristina *et al.* (2022) evaluó 398 reptiles de los cuales se identificaron bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter spp.*, *Enterococcus faecalis* y *Klebsiella oxytoca*, las cuales presentaron resistencia a múltiples familias de antimicrobianos como a cefalosporinas, macrólidos, lincosamidas, penicilinas, aminoglucósidos y tetraciclinas. De forma similar, Esposito *et al.* (2024) aislaron 138 cepas bacterianas de 60 tortugas marinas (*Caretta caretta*), evidenciando una alta frecuencia de bacterias Gram negativas resistentes. La familia *Pseudomonadaceae* presentó hasta 66,7% de resistencia a sulfametoxazol-trimetoprim y 33,3% a la enrofloxacin, mientras que *Enterobacteriaceae* alcanzó un 60% de resistencia frente a ceftazidima, doxiciclina, enrofloxacin y gentamicina.

De igual manera, Lai *et al.* (2025) evaluaron las bacterias aisladas de hisopados cloacales de 28 tortugas marinas (*Caretta caretta*), identificando 36 cepas resistentes a enrofloxacin y la presencia de importantes perfiles de multiresistencia, especialmente

en *Klebsiella variicola* y *Pseudomonas mendocina*. Asimismo, Ghafoor *et al.* (2025) caracterizaron mediante secuenciación metagenómica la microbiota intestinal de 139 tortugas verdes (*Chelonia mydas*), encontrando prevalencia del filo *Pseudomonadota* y una elevada presencia de *Pseudomonas* en adultos en cautiverio (67,5%). Además, identificaron diversos genes de resistencia antimicrobiana, destacando el gen *MacB* (resistencia a macrólidos). Estos resultados evidencian que los reptiles pueden desempeñar un papel relevante en la persistencia y diseminación de determinantes genéticos de resistencia dentro de los ecosistemas naturales.

En América Latina, los estudios realizados evidencian la presencia de bacterias oportunistas asociadas a enfermedades respiratorias. Al respecto, Quijandría Ñacari (2019) identificó los agentes bacterianos vinculados a estas patologías en ejemplares de tortugas patas amarillas (*Chelonoidis denticulata*) mantenidos en cautiverio (*ex situ*) en el Parque Zonal Huáscar (Lima, Perú). Tras evaluar 26 tortugas con signología respiratoria mediante hisopado nasal y cultivo, se determinó un predominio de bacterias Gram negativas; *Pseudomonas spp.* fue el género más frecuente (46,15%), seguido por *Klebsiella oxytoca* (26,92%) y *Enterobacter aerogenes* (11,53%).

Asimismo, Añorga Amado (2019), evaluó la sensibilidad antimicrobiana de bacterias asociadas a enfermedades respiratorias en 26 tortugas motelo. Se determinó mediante el método de difusión en disco de Kirby-Bauer, utilizando agar Mueller-Hinton y una suspensión bacteriana ajustada al estándar 0,5 de McFarland. Entre las 45 cepas aisladas se identificaron *Aeromonas spp.*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella oxytoca*, *Moraxella spp.*, *Pasteurella spp.*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas spp.* y *Serratia spp.*, se determinó que las bacterias aisladas presentaron alta sensibilidad a la amikacina (100%) y gentamicina (97,78%), mientras que mostraron menor susceptibilidad a la enrofloxacin (33,33%), oxitetraciclina (28,89%) y ampicilina (15,56%). El estudio concluyó que el uso de antibiogramas es fundamental para seleccionar un tratamiento antibiótico eficaz en quelonios en tenencia *ex situ*.

En este sentido, Nieto-Claudin *et al.* (2021) evaluaron genes de resistencia a antimicrobianos (ARGs) en tortugas gigantes de Galápagos (*Chelonoidis porteri*) de la Isla Isabela y Santa Cruz, se observó que el microbioma de las tortugas en ambas islas predominaba la presencia de genes resistentes a tetraciclinas (*tet*), betalactámicos (*blaTEM*) y quinolonas (*qnrS*). Sin embargo, en Santa Cruz, también prevalece la resistencia a aminoglucósidos (*aadA* 35%). Se determinó que existe una mayor frecuencia de genes multirresistentes en individuos que habitaban zonas urbanizadas y

agropecuarias de la isla Santa Cruz, en comparación con tortugas procedentes de áreas protegidas con mínima intervención antrópica.

A pesar de estos avances, en Ecuador existe un limitado número de investigaciones sobre los perfiles de resistencia antimicrobiana de bacterias respiratorias en quelonios terrestres, lo que dificulta el establecimiento de protocolos terapéuticos basados en evidencia científica. En centros de conservación como el Bioparque Amaru se han registrado casos de tortugas con afecciones respiratorias que no responden favorablemente a los tratamientos convencionales, situación que podría estar relacionada con la presencia de cepas bacterianas resistentes y con la ausencia de pruebas de sensibilidad antimicrobiana (Hedley *et al.*, 2021). Esta problemática resalta la necesidad de generar información local que permita optimizar el manejo clínico y promover el uso responsable de antimicrobianos.

Bajo este contexto, la presente investigación plantea la hipótesis de que las tortugas motelo (*Chelonoidis denticulata*) del Bioparque Amaru presentan resistencia antimicrobiana a por lo menos uno de los antibióticos de mayor uso clínico: enrofloxacina, amikacina o ciprofloxacina. Para comprobar esta hipótesis, el estudio tiene como objetivo evaluar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp.* y *Klebsiella spp.* aisladas del tracto respiratorio de tortugas motelo mantenidas en conservación *ex situ*, y describir su distribución según las características de los animales evaluados. Los resultados contribuirán al fortalecimiento de los protocolos de diagnóstico y tratamiento, favoreciendo la conservación de la especie y el uso racional de antimicrobianos bajo el enfoque One Health.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio correspondió a una investigación no experimental, de tipo descriptivo-analítico y de corte transversal. La población estuvo compuesta por 11 tortugas motelo (*Chelonoidis denticulata*) mantenidas en el Bioparque Amaru por un tiempo mínimo de 6 meses, ubicado en la autopista Azogues–Cuenca, provincia del Azuay, Ecuador. Las cuales fueron hembras y machos que pudieran presentar o no signos respiratorios (inflamación o secreción ocular-nasal) aparentes y con un peso entre 1,74 kg a 17,67 kg. La localización geográfica del área de estudio se presenta en el Gráfico 1.

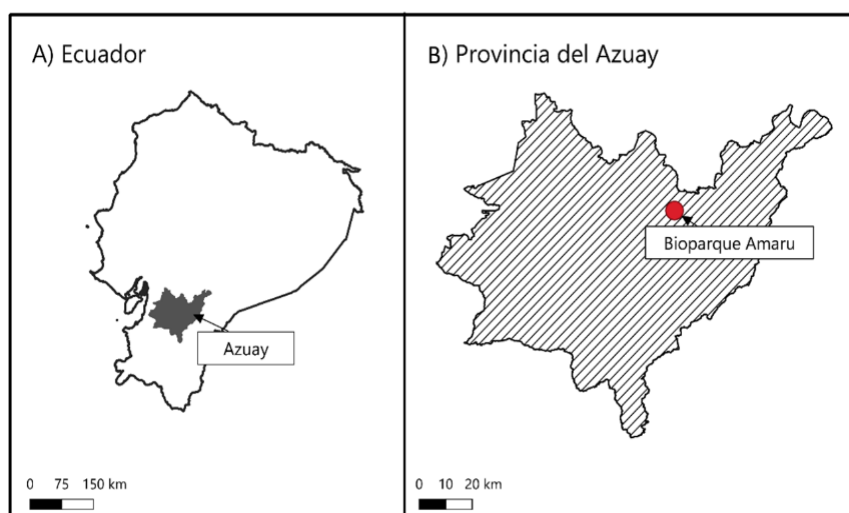


Gráfico 1. Ubicación geográfica del área de estudio. (A) Localización de la provincia del Azuay dentro de Ecuador. (B) Ubicación del Bioparque Amaru, sitio de muestreo de *Chelonoidis denticulata*, en la provincia del Azuay, Ecuador.

Fase 1, se levantaron los datos necesarios para las fichas clínicas de las 11 tortugas motelo. Posteriormente, las muestras se obtuvieron mediante lavado nasal. Previamente, se desinfectó la región externa de las fosas nasales con alcohol al 70%. Se administró solución salina estéril (NaCl al 0,9%) utilizando una jeringa de 3 ml acoplada a un catéter de 24G (0,5 ml en tortugas juveniles y 1 ml en adultas). Con la cabeza del animal inmovilizada y la lengua desplazada hacia las coanas para minimizar el riesgo de aspiración, se realizó el lavado nasal. La muestra fue recolectada con un hisopo estéril y colocada en un tubo con medio de transporte Stuart.

Posteriormente, fueron conservadas bajo refrigeración en medio de transporte y trasladadas al Laboratorio de Ecología Microbiana y Principios Activos del Centro de Investigación, Innovación y Transferencia Tecnológica (CIITT) de la Universidad Católica de Cuenca. El procedimiento metodológico seguido se resume en la Figura 1.

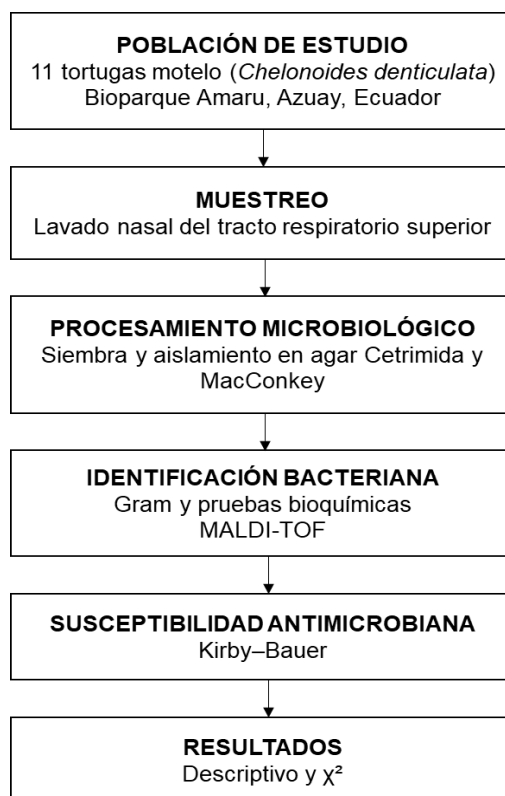


Figura 1. Flujograma de la metodología empleada para la evaluación de la resistencia antimicrobiana en cepas bacterianas aisladas del tracto respiratorio superior de *Chelonoides denticulata* del Bioparque Amaru, Azuay, Ecuador.

El aislamiento bacteriano se realizó mediante la técnica de estría por agotamiento en agar MacConkey, el cual es un medio diferencial y selectivo para fermentadoras y no fermentadoras de lactosa como *Enterobacter* y *Klebsiella*; y en agar Cetrimida, siendo un medio selectivo para *Pseudomonas spp.* Los cultivos se incubaron a 37 °C durante 24 h y, posteriormente, se realizó la evaluación macroscópica de las colonias según su morfología, en cuanto a pigmentación, olor, consistencia, forma y borde. Para la tinción de Gram emplearon los siguientes pasos:

Paso 1: Preparamos un frotis bacteriano sobre un portaobjetos utilizando una colonia aislada y una asa bacteriológica estéril. El extendido se fijó mediante calor para adherir las bacterias al portaobjetos y preservar su morfología durante el proceso de tinción.

Paso 2: Cubrimos el frotis completamente con cristal violeta durante 1 minuto, tras lo cual se enjuagó cuidadosamente con agua destilada para eliminar el exceso de colorante.

Paso 3: Aplicamos lugol durante 1 minuto, actuando como mordiente para favorecer la fijación del del complejo cristal violeta-yodo en la pared celular bacteriana y de igual manera, se realizó un lavado con agua destilada.

Paso 4: Realizamos la decoloración mediante acetona durante 30 a 40 segundos, seguida de un enjuague con agua destilada para detener la acción del decolorante.

Paso 5: Finalmente, cubrimos el frotis con safranina durante 1 minuto y realizamos un enjuague final. Para la caracterización morfológica de los aislamientos bacterianos, las muestras se observaron al microscopio con lente de 100x utilizando aceite de inmersión.

Con el propósito de descartar la presencia de otras bacterias, las colonias desarrolladas en agar MacConkey fueron sembradas en agar eosina azul de metileno (EMB) con la finalidad de descartar la presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella* o *Shigella*, mientras que las colonias obtenidas en agar Cetrimida fueron inoculadas en agar hierro triple azúcar (TSI) para confirmar la presencia de *Pseudomona spp.*

La identificación bioquímica de los aislamientos se realizó mediante las pruebas de catalasa, oxidasa y utilización de agar Citrato de Simmons. Para la prueba de catalasa, primero se colocó una gota de peróxido de hidrógeno en un portaobjetos y después, con la ayuda de un asa recta, se tomó una colonia y se colocó en la gota del portaobjetos para observar si se generaba la producción de efervescencia en caso de ser positiva. En la prueba de oxidasa, con la ayuda de un palillo de madera, primero se colocó una gota de agua destilada en la tira reactiva, después se tomó una colonia y se dispersó la toma en el centro de la tira reactiva para observar la aparición de una coloración púrpura sobre papel reactivo en caso de ser positiva para *Pseudomona spp.* La utilización de citrato de Simmons se consideró positiva para *Enterobacter*, *Pseudomonas* y *Klebsiella* cuando se observó crecimiento bacteriano acompañado de un cambio de color del medio de verde a azul.

Después de haber realizado las pruebas bioquímicas, se seleccionaron las cepas bacterianas con las características morfológicas similares a las bacterias de interés. Para ser aisladas y sembradas en agar sangre y remitidas a un laboratorio especializado para su identificación confirmatoria mediante espectrometría de masas MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization–Time of Flight), permitiendo la identificación de los aislamientos a nivel de género y especie.

Para la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana, con la ayuda de un asa redonda, se seleccionaron entre 6 a 10 colonias puras obtenidas tras 18–24 h de incubación y se suspendieron dentro de un tubo con 10 ml de agua destilada, después colocamos 1,5 ml de suspensión en las cubetas para posteriormente colocarlas dentro del espectrofotómetro hasta alcanzar una turbidez equivalente al estándar 0,5 de McFarland. A partir de esta suspensión, se inocularon 100 µL sobre la superficie de agar Mueller-Hinton utilizando una espátula de Drigalski para obtener un crecimiento bacteriano homogéneo.

Posteriormente, se colocaron los discos impregnados con enrofloxacin (5 µg), amikacina (30 µg) y ciprofloxacina (5 µg), manteniendo una separación adecuada para evitar la superposición de los halos de inhibición. Las placas se incubaron a 37 °C durante 18-24 h y los diámetros de los halos de inhibición fueron medidos en milímetros. Finalmente, la interpretación de los resultados se realizó de acuerdo con los criterios establecidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), clasificando los aislamientos como sensibles, intermedios o resistentes detallados en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Rangos de los diámetros de los halos de inhibición para la interpretación de susceptibilidad antimicrobiana.

<i>Enterobacteriaceae (Klebsiella, Enterobacter)</i>			
Antibióticos	S	I	R
Amikacina 30 µg	≥20	17 - 19	≤ 16
Ciprofloxacina 5 µg	≥ 26	22 - 25	≤ 21
Enrofloxacin 5 µg	≥ 23	17 -22	≤ 16
<i>Pseudomonadaceae (Pseudomonas)</i>			
Antibióticos	S	I	R
Amikacina 30 µg	≥17	15 - 16	≤ 14
Ciprofloxacina 5 µg	≥ 25	19 - 24	≤ 18
Enrofloxacin 5 µg	≥ 23	17 -22	≤ 16

Nota. S: susceptible; I: intermedio; R: resistente

El análisis de los datos incluyó estadística descriptiva mediante tablas de frecuencia y gráficos. Adicionalmente, se aplicó la prueba de chi-cuadrado (χ^2) para evaluar la asociación entre el perfil de susceptibilidad y los antibióticos evaluados, considerando un nivel de significancia de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Características de la población de estudio

El muestreo se realizó en el Bioparque Amaru, situado en Cuenca, Ecuador. De los 11 individuos evaluados, se obtuvieron ocho aislamientos bacterianos

correspondientes a las especies de interés. La población estuvo conformada por cinco machos (62,5 %) y tres hembras (37,5 %). El peso corporal de los individuos varió entre 1,74 y 17,67 kg, con cuatro tortugas en la categoría de < 7 kg y cuatro en la categoría de ≥ 7 kg. De igual manera, el tiempo de permanencia en el Bioparque Amaru abarcó ingresos realizados entre 2017 y 2025, distribuyéndose cuatro individuos con ingreso previo a 2022 y cuatro con ingreso a partir de ese año.

Aislamiento e identificación bacteriana

A partir de las muestras de lavado nasal obtenidas se aislaron ocho cepas de bacilos Gram negativos, correspondientes a los géneros deseados de *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*. Durante el proceso de aislamiento también se recuperaron otros bacilos Gram negativos con características bioquímicas compatibles con *Escherichia coli*, *Proteus* spp. y *Salmonella* spp. identificados mediante pruebas bioquímicas, pero excluidos del análisis por no cumplir los criterios de selección. La selección de los aislados se realizó considerando las características macroscópicas de las colonias, la morfología microscópica, la tinción de Gram y las pruebas bioquímicas.

La identificación mediante espectrometría de masas MALDI-TOF MS confirmó la presencia de *Enterobacter hormaechei* (n = 4; 50,0%), *Klebsiella oxytoca* (n = 2; 25,0%), *Pseudomonas oleovorans* (n = 1; 12,5%) y *Pseudomonas mendocina* (n = 1; 12,5%) detalladas en el Cuadro 2. Las cepas de *Klebsiella oxytoca* se obtuvieron de los individuos (2/11) que presentaban secreciones nasales.

Cuadro 2. Especies bacterianas aisladas e identificadas mediante MALDI-TOF MS a partir de muestras de lavado nasal de *Chelonoidis denticulata*.

Género	Especie identificada	n	%
<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter hormaechei</i>	4	50,0
<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	25,0
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas oleovorans</i>	1	12,5
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>	1	12,5
Total		8	100,0

Susceptibilidad de antibióticos

En el Cuadro 3 se presentan los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana clasificados como susceptibles (S), intermedios (I) y resistentes (R). Se observó que *Enterobacter hormaechei* presentó un patrón uniforme de resistencia a amikacina y susceptibilidad intermedia frente a ciprofloxacina y enrofloxacina, mientras que los aislamientos de *Klebsiella oxytoca* y *Pseudomonas* spp. mostraron perfiles variables de susceptibilidad.

Cuadro 3. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos bacterianos.

Especie Bacteriana	Antibióticos		
	AK	CIP	ENR
<i>E. hormaechei</i>	R	I	I
<i>E. hormaechei</i>	R	I	I
<i>E. hormaechei</i>	R	I	I
<i>E. hormaechei</i>	R	I	I
<i>K. oxytoca</i>	R	S	S
<i>K. oxytoca</i>	R	I	I
<i>P. mendocina</i>	S	I	S
<i>P. oleovorans</i>	S	S	S

Nota. AK: amikacina; CIP: ciprofloxacina; ENR: enrofloxacina. S: susceptible; I: resistencia intermedia; R: resistente. La susceptibilidad antimicrobiana se determinó mediante el método de difusión en disco (Kirby–Bauer) e interpretó de acuerdo con los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Se evaluó la susceptibilidad de los aislados bacterianos frente a amikacina, ciprofloxacina y enrofloxacina. La mayor proporción de aislados presentó resistencia o susceptibilidad intermedia (R+I) frente a la amikacina y ciprofloxacina (75%), mientras que la enrofloxacina registró un 62,5% de aislados clasificados como resistentes o intermedios. El análisis mediante la prueba de chi-cuadrado evidenció una asociación estadísticamente significativa entre el perfil de susceptibilidad y los antibióticos evaluados (χ^2 , $p = 0,001278$), lo que indica que la distribución de los aislamientos resistentes, intermedios y susceptibles no fue homogénea entre los tres antimicrobianos.

Distribución de los perfiles de susceptibilidad.

Al describir la distribución de los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana según el sexo de los animales, se observó una mayor frecuencia de aislados con resistencia o susceptibilidad intermedia en los machos. De acuerdo con la categoría de peso corporal, tanto los animales con un peso menor o mayor a 7 kg presentaron elevados porcentajes de resistencia o susceptibilidad intermedia frente a amikacina y ciprofloxacina. Para enrofloxacina, se observó una mayor frecuencia de aislados resistentes en los animales con un peso > 7 kg. Por último, según el período de ingreso al Bioparque, los perfiles de susceptibilidad frente a amikacina y ciprofloxacina fueron similares. En cambio, para enrofloxacina se observó una menor frecuencia de aislados con resistencia o susceptibilidad intermedia (Figura 2).

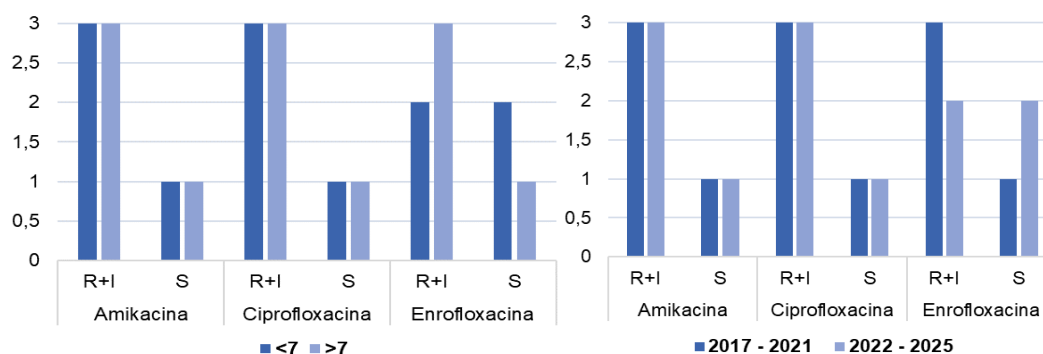


Figura 2. Distribución de los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana según la categoría de peso corporal y período de ingreso al Bioparque de las tortugas motelo (*Chelonoidis denticulata*).

DISCUSIÓN

En la actualidad, la resistencia antimicrobiana constituye uno de los máximos desafíos para la salud pública, ya que contribuye a la prolongación y difusión de bacterias resistentes entre especies animales, seres humanos y el entorno. En los últimos años, la fauna silvestre presenta un papel crucial en el enfoque One Health, ya que distintas especies pueden funcionar como reservorios y vehículos de bacterias resistentes, incluso sin evidenciar signos clínicos (Li *et al.*, 2024).

En el presente estudio se aislaron bacterias pertenecientes a los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Pseudomonas* a partir de muestras de lavado nasal de tortugas motelo (*Chelonoidis denticulata*) mantenidas en el Bioparque Amaru en Cuenca, Ecuador. Los resultados obtenidos del antibiograma evidenciaron que la amikacina presenta el mayor porcentaje de cepas clasificadas como resistentes (75%), seguida de susceptibilidad intermedia de la ciprofloxacina (75%) y la enrofloxacina (62,5%). Estos hallazgos sugieren una disminución considerable de la susceptibilidad bacteriana frente a estos antimicrobianos, situación que reduce las opciones de tratamiento y representa un potencial riesgo sanitario.

La presencia de bacterias Gram negativas de las familias *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonadaceae* aisladas en esta investigación concuerdan con estudios previos en reptiles, mayormente en quelonios marinos (Fernandes *et al.*, 2021; Tsai *et al.*, 2021). Los géneros de bacterias oportunistas *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Pseudomonas* evaluados de ejemplares de tortugas patas amarillas coinciden con los identificados en el Parque Zonal Huáscar en Perú. Quijandria (2019), identificó 10 especies bacterias Gram negativas destacando *Pseudomonas spp.* (46,15%), *Klebsiella oxytoca* (26,92%), *Proteus vulgaris* (19,23%) y *Enterobacter aerogenes* (11,53%).

De la familia *Enterobacteriaceae*, se aislaron los géneros *Klebsiella* (2/8) y *Enterobacter* (4/8). Arellano y Avilés (2024), detalla que esta familia de Gram negativas incluye géneros de importancia médica como *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* entre otros, asociados con diversas enfermedades y se ha demostrado que su expansión geográfica es considerable, junto con nuevas enfermedades emergentes en diferentes regiones. Ebani (2023), detalla que se han reportado que *E. hormaechei* fue relacionado con un caso de artritis séptica en una tortuga verde (*Chelonia mydas*), que posteriormente evolucionó a celomitis generalizada y provocó la muerte del animal. Asimismo, especies de *Enterobacter* han sido aisladas en estudios de microbiota de tortugas marinas, por lo que su presencia puede estar relacionada tanto con la microbiota como con procesos oportunistas.

Por otro lado, se identificaron dos géneros de *Pseudomonas*. Ciccarelli *et al.* (2020), han aislado cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *P. putrefaciens* a partir de muestras de lavado broncoalveolar de tortugas *Caretta caretta* con enfermedad pulmonar, encontrándose una cepa de *P. putrefaciens* resistente a todos los antibióticos evaluados (betalactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas, lincosamidas, entre otros).

Las bacterias aisladas de la familia *Enterobacteriaceae*, *Klebsiella spp.* y *Enterobacter spp.* presentaron mínima susceptibilidad a los antibióticos estudiados contrastando con lo reportado por Lazarkevich *et al.* (2024), donde identificaron *Klebsiella oxytoca* (79,2%), *Klebsiella pneumoniae* (79,2%), *Enterobacter cloacae* (79,2%), *Klebsiella aerogene* (54,2%), etc., en tortugas *Testudo graeca* y *T. hermanni*. En las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, siendo *K. oxytoca*, la bacteria de interés, presentó una alta sensibilidad a la amikacina y la ciprofloxacina.

Por otro lado, el género *Pseudomonas spp.* evaluado mostró una alta sensibilidad a los antimicrobianos. En concordancia con estos resultados, Cristina *et al.* (2022) reportaron que las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* presentaron susceptibilidad frente a los aminoglucósidos (amikacina AN; rango MIC 16–64 µg/mL) y fluoroquinolonas (ciprofloxacina CIP; Rango MIC 0,06–1 µg/mL).

Las fluoroquinolonas evaluadas presentaron una elevada susceptibilidad intermedia a las cepas aisladas, especialmente el género *Enterobacter* (4/4). Estos resultados se asemejan a investigaciones previas en quelonios usando enrofloxacin y ciprofloxacina (Alduina *et al.*, 2020). En quelonios marinos (*Caretta caretta*) se aislaron bacterias Gram negativas incluyendo *Enterobacter cancerogenus*, *Pseudomonas fluorescens* y *P. mendocina*, se obtuvieron perfiles de resistencia antimicrobiana de las

familias *Pseudomonadaceae* (50%) y *Enterobacteriaceae* (60%) frente a la enrofloxacin (Esposito *et al.*, 2024).

En relación a los aminoglucósidos, los aislamientos obtenidos de *Klebsiella* spp. y *Enterobacter* spp. mostraron resistencia a la amikacina. Estos resultados difieren de los reportados por Añorga (2019), en donde los 45 aislamientos bacterianos de tortugas motelo (*Chelonoidis denticulata*) incluyendo *Enterobacter aerogenes* y *Klebsiella oxytoca* presentaron susceptibilidad frente a la amikacina (100%).

Lai *et al.* (2025), identificaron 36 cepas de bacterias resistentes a la enrofloxacin aisladas de 22 de las 28 tortugas muestreadas, entre las que se encontraron *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas mendocina* y *Klebsiella variicola*. Con base a estos hallazgos, los autores concluyeron que las tortugas pueden actuar como reservorios de bacterias resistentes a fluoroquinolonas y contribuir a su dispersión en el ambiente marino. En el presente estudio también se observó que se está generando resistencia a la enrofloxacin y a la ciprofloxacina en aislamientos obtenidos de tortugas motelo (*Chelonoidis denticulata*), lo que sugiere que la resistencia a las fluoroquinolonas no se limita a especies marinas, sino que podría encontrarse ampliamente distribuida en distintas especies de tortugas y en diversos ecosistemas.

Respecto a *Enterobacter hormaechei*, se evidenció únicamente perfiles de resistencia y susceptibilidad intermedia. Este comportamiento alcanza relevancia al comparar al reportado por Goldberg *et al.* (2019), al identificar una cepa de *E. hormaechei* ST114 productora de β -lactamasa y multirresistente frente a betalactámicos, aminoglucósidos, quinolonas, cloranfenicol y tetraciclinas. Estos resultados refuerzan la importancia del control de los perfiles de susceptibilidad de este microorganismo, considerando que *E. hormaechei* puede presentar resistencia a múltiples familias antimicrobianas considerándolo como un agente de importancia ambiental y veterinaria.

Nieto-Claudin *et al.* (2019) evidencian que la actividad antropogénica son un factor importante en la presencia y diseminación de genes resistentes a los antimicrobianos en la fauna silvestre, al obtener un 100% de ARGs en los quelonios evaluados y multirresistencia en el 35,7% de los ejemplares. En concordancia con ello, la presente investigación considera que el uso de antibióticos sin previo antibiograma, el hábitat compartido con otras especies de quelonios junto a los ejemplares con mayor tiempo de permanencia en el Bioparque podría contribuir al aumento de bacterias resistentes a los antimicrobianos evaluados. Esta posibilidad adquiere relevancia debido

a que la amikacina, enrofloxacin y ciprofloxacina son los principales antimicrobianos usados en los protocolos terapéuticos del Bioparque Amaru.

Por ello, el enfoque One Health representa una estrategia integral para abordar la resistencia a los antimicrobianos, reconociendo la participación equitativa entre la salud humana, animal y ambiental (Amuasi *et al.*, 2020). Bajo esta perspectiva, la identificación de cepas bacterianas resistentes en tortugas motelo adquiere relevancia, considerando que, al encontrarse en un Bioparque abierto al público, existe una interacción constante entre animales, humanos y ambiente que podría favorecer la circulación de microorganismos resistentes. Habiendo evidencia de la circulación de enterobacterias patógenas zoonóticas como *Salmonella* (Pees *et al.*, 2023), y considerando el potencial zoonótico de *E. hormaechei* (Chen *et al.*, 2022), estos hallazgos constituyen un riesgo para la salud pública, considerando los hallazgos de resistencia detectada en las cepas de *Enterobacter* aisladas.

Esta relación es similar con lo reportado por Nieto-Claudin *et al.* (2021), quienes encontraron una mayor frecuencia de genes asociados con multirresistencia en tortugas gigantes de Galápagos (*Chelonoidis porteri*) provenientes de zonas urbanizadas y agropecuarias, en comparación con áreas protegidas con mínima intervención antrópica, sugiriendo que la actividad humana puede favorecer la dispersión de bacterias resistentes en el ambiente. En concordancia, los resultados obtenidos resaltan la importancia de fortalecer la vigilancia microbiológica en especies silvestres y sus ambientes.

CONCLUSIONES

- Este estudio permitió evaluar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* y *Pseudomonas spp.* aisladas del tracto respiratorio superior de tortugas motelo (*Chelonoidis denticulatus*) del Bioparque Amaru. Se evidenció la presencia de bacterias oportunistas de importancia clínica, principalmente *Enterobacter hormaechei* y *Klebsiella oxytoca*, así como altos porcentajes de resistencia o susceptibilidad intermedia frente a amikacina (75 %), ciprofloxacina (75 %) y enrofloxacin (62,5 %). Estos hallazgos confirman la hipótesis planteada, demostrando que las tortugas presentan resistencia o susceptibilidad intermedia a, por lo menos, uno de los antimicrobianos de mayor uso clínico evaluados.
- Con base en estos resultados, se recomienda que el uso de antimicrobianos debe ser respaldado por pruebas de susceptibilidad (antibiogramas), evitando tratamientos empíricos que puedan favorecer la selección y diseminación de

bacterias resistentes. Asimismo, es importante fortalecer las medidas de bioseguridad y mantener un monitoreo periódico de la resistencia antimicrobiana en la colección de tortugas.

- Para futuras investigaciones, se recomienda aumentar el tamaño de la muestra e implementar un seguimiento de los animales a lo largo del tiempo para determinar si los perfiles de resistencia se mantienen o cambian. También se sugiere incluir otros géneros bacterianos de interés, complementar la identificación bacteriana con técnicas moleculares para detectar genes de resistencia y realizar muestreos ambientales en agua, sustrato y superficies del Bioparque bajo un enfoque One Health, con el fin de comprender mejor las posibles fuentes y vías de transmisión de bacterias resistentes entre los animales y su entorno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alduina, R., Gambino, D., Presentato, A., Gentile, A., Sucato, A., Savoca, D., Filippello, S., Visconti, G., Caracappa, G., Vicari, D., & Arculeo, M. (2020). Is Caretta Caretta a Carrier of Antibiotic Resistance in the Mediterranean Sea? *Antibiotics*, 9(3), 116. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9030116>
- Amuasi, J. H., Lucas, T., Horton, R., & Winkler, A. S. (2020). Reconnecting for our future: the lancet one health commission. *The Lancet*, 395(10235), 1469-1471. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31027-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31027-8)
- Añorga, L. (2019). *Sensibilidad Antimicrobiana De Las Bacterias Asociadas A Enfermedad Respiratoria En La Tortuga Motelo De Patas Amarillas (Chelonoidis denticulata) De La Ciudad De Lima, 2019* [Tesis de Grado, Universidad Alas Peruanas]. <https://hdl.handle.net/20.500.12990/9374>
- Arellano, T., & Avilés, D., (2024). Bacterias Patógenas en Tortugas Marinas: Diagnóstico, Tratamiento y Prevención. *Reincisol*, 3(6), pp. 5101-5127. [https://doi.org/10.59282/reincisol.V3\(6\)5101-5127](https://doi.org/10.59282/reincisol.V3(6)5101-5127)
- Chen, C. W., Yuan, L., Zhang, Y. S., Mgomi, F. C., Wang, Y., Yang, Z. Q., & Jiao, X. A. (2022). Comparision of biological and genomic characteristics of five virulent bacteriophages against Enterobacter hormaechei. *Microbial pathogenesis*, 162, 105375.
- Ciccarelli, S., Valastro, C., Di Bello, A., Paci, S., Caprio, F., Corrente, M. L., Trotta, A., & Franchini, D. (2020). Diagnosis and Treatment of Pulmonary Disease in Sea Turtles (Caretta caretta). *Animals*, 10(8), 1355. <https://doi.org/10.3390/ani10081355>
- CLSI. (2025). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (35th ed. CLSI M100)*. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cristina, R. T., Kocsis, R., Dégi, J., Muselin, F., Dumitrescu, E., Tirziu, E., Herman, V., Darău, A. P., & Oprescu, I. (2022). Pathology and prevalence of antibiotic-resistant bacteria: A study of 398 pet reptiles. *Animals*, 12(10), 1279.
- Deem, S. L., & Brenn-White, M. (2020). One Health—the key to preventing COVID-19 from becoming the new normal. *Molecular Frontiers Journal*, 4, 30-35.
- Ebani, V. V. (2023). Bacterial Infections in Sea Turtles. *Veterinary Sciences*, 10(5), 333. <https://doi.org/10.3390/vetsci10050333>

- Esposito, E., Pace, A., Affuso, A., Oliviero, M., Iaccarino, D., Paduano, G., Maffucci, F., Fusco, G., De Carlo, E., Hochscheid, S., & Di Nocera, F. (2024). Antibiotic Resistance of Bacteria Isolated from Clinical Samples and Organs of Rescued Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*) in Southern Italy. *Animals*, 14(14), 1-18. <https://doi.org/10.3390/ani14142103>
- Fernandes, M., Grilo, M., Carneiro, C., Cunha, E., Tavares, L., Patino-Martinez, J., & Oliveira, M. (2021). Antibiotic Resistance and Virulence Profiles of Gram-Negative Bacteria Isolated from Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*) of the Island of Maio, Cape Verde. *Antibiotics*, 10(7), 771. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070771>
- Ghafoor, D., Hayakijkosol, O., Prasetsincharoen, N., Chen, C., Noman, M., Chomchat, P., & Kinobe, R. (2025). Characterisation of the gut microbiome and surveillance of antibiotic resistance genes in green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Marine Environmental Research*, 212, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2025.107605>
- Goldberg, D., Fernandes, M., Sellera, F., Costa, D., Loureiro, A., & Lincopan, N. (2019). Genetic background of CTX-M-15-producing *Enterobacter hormaechei* ST114 and *Citrobacter freundii* ST265 co-infecting a free-living green turtle (*Chelonia mydas*). *Zoonoses Public Health*, 66, 540–545. <https://doi.org/10.1111/zph.12572>
- Hedley, J., Whitehead, M.L., Munns, C., Pellett, S., Abou-Zahr, T., Calvo Carrasco, D., & Wissink-Argilaga, N. (2021). Antibiotic stewardship for reptiles. *J Small Anim Pract*, 62, 829-839. <https://doi.org/10.1111/jsap.13402>
- Lai, O., Tinelli, A., Soloperto, S., Crescenzo, G., Galante, D., Calarco, A., Tribuzio, M., Manzulli, V., Caioni, G., Zizzadoro, C., Damiano, A., Camarda, A., & Pugliese, N. (2025). Observed Prevalence and Characterization of Fluoroquinolone-Resistant and Multidrug-Resistant Bacteria in Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*) from the Adriatic Sea. *Antibiotics*, 14(252), 1-12. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030252>
- Lazarkevich, I., Engibarov, S., Mitova, S., Popova, S., Vacheva, E., Stanchev, N., Eneva, R., Gocheva, Y., Lalovska, I., Paunova, T., Ilieva, Y., & Najdenski, H. (2024). Pathogenic Potential of Opportunistic Gram-Negative Bacteria Isolated from the Cloacal Microbiota of Free-Living Reptile Hosts Originating from Bulgaria. *Life*, 14(5), 1-12. <https://doi.org/10.3390/life14050566>

- Li, X., Mowlaboccus, S., Jackson, B., Cai, C., & Coombs, G. (2024). Antimicrobial resistance among clinically significant bacteria in wildlife: An overlooked one health concern. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 64(3), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2024.107251>
- Liu, H., Tang, H., Chiou, C., Lin, Y., Chiang, M., Tung, K., Lai, Y., & Lu, M. (2025). Prevalence and Virulence Profiles of *Klebsiella pneumoniae* Isolated From Different Animals. *Veterinary Medicine and Science*, 11(2), 1-11. <https://doi.org/10.1002/vms3.70243>
- Lorenz, C., Silva, M., Frey, E., Fritz, H., & Marshall, E. (2023). Antibigrams as one-health tools for antimicrobial stewardship: California's experience with livestock antibiogram development. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 261(9), 1272-1280.
- Nieto-Claudin, A., Esperón, F., Blake, S., & Deem, S. (2019). Antimicrobial resistance genes present in the faecal microbiota of free-living galapagos tortoises (*Chelonoidis porteri*). *Zoonoses Public Health*, 66, 900–908. <https://doi.org/10.1111/zph.12639>.
- Nieto-Claudin., A, Deem., S., Rodríguez, C., Cano, S., Moity, N., Cabrera, F., & Esperón, F. (2021). Antimicrobial resistance in Galapagos tortoises as an indicator of the growing human footprint. *Environmental Pollution*, 284, 117453. [10.1016/j.envpol.2021.117453](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117453)
- Pees, M., Brockmann, M., Steiner, N., & Marschang, R. E. (2023). Salmonella in reptiles: a review of occurrence, interactions, shedding and risk factors for human infections. *Frontiers in cell and developmental biology*, 11, 1251036.
- Proyecto Sistema Nacional de Control Forestal y Vida Silvestre (PCFVS). (2025). *Sistema Nacional de Control Forestal y Vida Silvestre*. Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica. <https://www.ambienteenergia.gob.ec/ambiente/sistema-nacional-de-control-forestal-y-vida-silvestre-pcfvs/>
- Quijandria, S. (2019). *Identificación de bacterias responsables de enfermedades respiratorias en tortugas motelo de patas amarillas (Chelonoidis denticulata) en el zoológico Parque Zonal Huascar de la ciudad de Lima* [Tesis de Grado, Universidad Alas Peruanas]. <https://hdl.handle.net/20.500.12990/9356>

- Schumacher, J. (2003). Reptile respiratory medicine. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 6(1), 213-231. [https://doi.org/10.1016/S1094-9194\(02\)00020-8](https://doi.org/10.1016/S1094-9194(02)00020-8)
- Tracchia, A. (2018). *Medicina en Quelonios y otros Reptiles (1er ed.)*. Ediciones Fundación Azara. ISBN: 978 987 1699 41 4
- Tsai, M. A., Chang, C. C., & Li, T. H. (2021). Antimicrobial-resistance profiles of gram-negative bacteria isolated from green turtles (*Chelonia mydas*) in Taiwan. *Environmental Pollution*, 277, 116870. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116870>
- World Health Organization. (2026). *Antibiotic Resistance Fact Sheet*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>.
- Yeh, T. K., Lin, H. J., Liu, P. Y., Wang, J. H., & Hsueh, P. R. (2022). Antibiotic resistance in *Enterobacter hormaechei*. *International journal of antimicrobial agents*, 60(4), 106650. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2022.106650>

Isis Alessa Jumbo Motoche portadora de la cédula de ciudadanía N° **0706205903** y **María Belén García Coofre** portadora de la cédula de ciudadanía N° **0751024613**. En calidad de autoras y titulares de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación **“Resistencia antimicrobiana de cepas de *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp.* y *Klebsiella spp.* del tracto respiratorio en tortugas motelo (*Chelonoidis denticulata*)”** de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **01 de octubre de 2026**



F:

Isis Alessa Jumbo Motoche

C.I. 0706205903



F:

María Belén García Coofre

C.I. 0751024613