

# Salmonelas en lagartos de la Isla de Tenerife

González-Lama, Z; Rodríguez Melián, R; Lupiola Gómez. P.A.; Microbiología.

Facultad de Veterinaria. ULPGC. Trasmontaña, s/n. 35416 Arucas (Gran Canaria). España.

## Salmonella in lizards from Tenerife Island.

**Palabras clave:** *Gallotia galloti*, *Salmonella*, Tenerife

**Keys words:** *Gallotia galloti*, *Salmonella*, Tenerife Island.

**RESUMEN:** Ha sido investigada la presencia de *Salmonella* spp. en intestino y vesícula biliar de *Gallotia galloti*, lagarto endémico de la Isla de Tenerife. 57 cepas de *Salmonella* fueron aisladas, 28 cepas aglutinaron con el antisuero O de *Salmonella* polivalente PolyC, 26 cepas con el antisuero O de *Salmonella* polivalente Poly B, 2 cepas con el antisuero O de *Salmonella* polivalente A y una cepa con el antisuero O de *Salmonella* polivalente PolyD. El estudio de *Salmonella* spp. en el contenido intestinal y vesícula biliar de *Gallotia galloti* mostró una alta parasitación (100%).

**SUMMARY:** Have been investigated the occurrence of *Salmonella* spp. in intestine and gall-bladder from *Gallotia galloti*, endemic lizard of Tenerife Island (Canary Islands, Spain). 57 strains of *Salmonella* spp. were isolated, 28 strains were agglutinated with *Salmonella* O antiserum Poly C, 26 strains with *Salmonella* O antiserum Poly B, 2 strains with *Salmonella* O antiserum Poly C and one strains with *Salmonella* O antiserum Poly D. The study of *Salmonella* spp. in gall-bladder and intestine contents from *Gallotia galloti* showed a high parasitation (100%).

## Introducción

El género *Salmonella* está compuesto por bacterias móviles pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* (7). Los microorganismos de esta familia son bacilos Gram negativos, no formadores de esporas, anaerobios facultativos, crecen bien en Agar MacConkey, fermentan la D-glucosa y otros azúcares, a menudo con formación de gas, son catalasa positivos y carecen del enzima citocromo oxidasa, reducen los nitratos a nitritos y tienen un antígeno común. Su contenido de guanina + citosina (G+C) de su ADN, varía de 39 al 59%. Después de muchos estudios y discusiones ya se ha llegado a un acuerdo para la nomenclatura y clasificación del género *Salmonella* (7,8,25,36). Dos especies son reconocidas en el género *Salmonella*: *Salmonella enterica*, la cual está compuesta de seis subespecies (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* o subsp. I; *Salmonella enterica* subsp. *salamae* o subsp. II; *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* o subsp. IIIa; *Salmonella enterica* subsp.

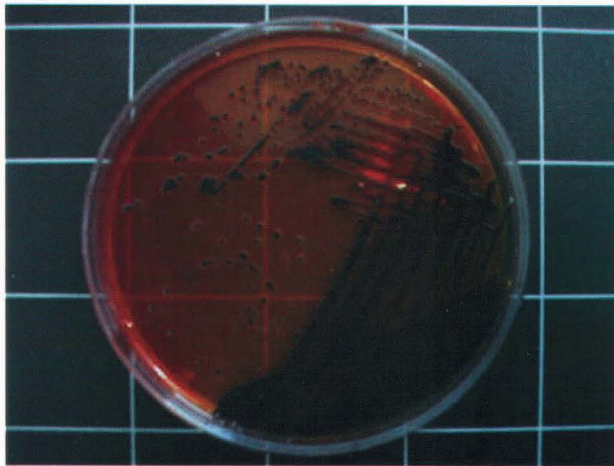
*diarizonae* o subsp. IIIb; *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* o subsp. IV; *Salmonella enterica* subsp. *indica* o subsp. VI) y *Salmonella bongori* denominada anteriormente subsp. V. Las cepas de la subsp. I usualmente se aíslan del ser humano y de animales de sangre caliente. Las cepas de las subespecies II, IIIa, IIIb, IV, VI y de *Salmonella bongori* se suelen aislar de

animales de sangre fría y del ambiente, rara vez de humanos. Las salmonelas se designan por serotipos de acuerdo con el esquema de Kauffmann-White (35, 36) que se basa en sus antígenos somáticos (O) y flagelares (H). Salmonelas han sido encontradas en reptiles, anfibios y moluscos (4, 10, 13, 18, 23, 30, 34, 39), generalmente estos microorganismos se comportan, en estos animales, como patógenos oportunistas. Diversos estudios sobre *Salmonella* han sido realizados en lagartos (9, 20); geckos (12, 29), cocodrilos (15, 21, 22, 41, 42), serpientes (1, 2, 16, 37), tortugas (6, 14, 32, 33) e iguanas (3, 24, 31). En reptiles utilizados como mascotas, se han aislado salmonelas que han sido fuente de infección en humanos, sobretudo en niños, produciéndoles diversos cuadros clínicos (5, 9, 17, 28, 40, 43). De ahí la gran importancia que tiene el estudio de salmonelas en reptiles que van a ser utilizados como mascotas.

*Gallotia galloti* es un lagarto endémico de la Isla de Tenerife y que ha colonizado las otras Islas Occi-



▲ *Gallotia galloti*.



▲ Aislamiento de *Salmonella* spp. en S S Agar.



▲ Aislamiento de *Salmonella* spp. en Agar Verde Brillante.

dentales (La Gomera, El Hierro y La Palma) (11, 38).

Nuestro propósito en este trabajo es el aislar salmonelas en *Gallotia galloti* procedentes de la Isla de Tenerife. Estudios similares a éste han sido realizados sobre *Gallotia stehlini*, lagarto endémico de la Isla de Gran Canaria (26,27).

### Material y métodos

Cuatro ejemplares de *Gallotia galloti*, capturados en la Isla de Tenerife, nos fueron proporcionados por el equipo de investigación de la Profesora Maximina Monzón Mayor del departamento de Morfología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la ULPGC. Dichos animales habían sido utilizados, por ese equipo de investigación, para estudios del sistema nervioso y posteriormente fueron congelados. Los animales congelados, los descongelamos en el frigorífico durante una noche a 4°C; por la mañana procedimos a la extirpación de la vesícula biliar y parte del intestino, ya que son los lugares donde se suelen encontrar las salmonelas. Ambas vísceras las incubamos, por separado, en los medios líquidos de enriquecimiento: Caldo de Selenito y Caldo de Rappaport-Vassiliadis; la incubación se llevó a cabo a 37°C durante 24 horas. A partir de los medios de enriquecimiento se realizaron resiembas en placas de Agar Verde Brillante y Agar SS. Estas placas se incubaron durante 24 horas a 37°C. A las colonias sospechosas de ser sal-

monelas se les hizo un API20E, con el fin de identificarlas. El API20E es un sistema para la identificación bioquímica de enterobacterias y otros bacilos Gram negativos, mediante 23 pruebas bioquímicas estandarizadas y miniaturizadas y una base de datos. A las bacterias identificadas como *Salmonella* spp. se le realizaron pruebas de aglutinación utilizando sueros polivalentes de *Salmonella* anti-O, suministrados por la casa Difco (USA). Las aglutinaciones se llevaron a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante. Los antisueros utilizados han sido: Poly A (mezcla de antisueros pertenecientes a los grupos de *Salmonella*: A, B, D, E1, E2, E3, E4, L), Poly B (grupos: C1, C2, F, G, H), Poly C (grupos: I, J, K, M, N, O) y Poly D (grupos: P, Q, R, S, T, U). Todos los medios de cultivo nos fueron suministrados por la casa comercial Difco (USA). El API20E nos lo suministró la casa comercial Biomérieux.

### Resultados y discusión

En todos los *Gallotia galloti* estudiados hemos encontrado salmonelas, tanto en la vesícula biliar como en el intestino. Se han aislado un total de 57 cepas de *Salmonella* spp. distribuidas en cinco biotipos API20E diferentes. Para obtener los números de seis cifras correspondientes a los biotipos API20E, se dividen las pruebas bioquímicas en grupos de tres, y cada uno de estos grupos da lugar a un número. Si la

1ª prueba es positiva tiene valor 1, si la 2ª prueba es positiva tiene valor 2 y si la 3ª prueba es positiva tiene valor 4; las pruebas negativas tienen valor cero; cada número se obtiene sumando los valores de las tres pruebas; los valores obtenidos pueden ser: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7. Los cinco biotipos API20E encontrados son los siguientes: 6704552 (biotipo I), 6704152 (biotipo II), 4704552 (biotipo III), 6704512 (biotipo IV) y 7704552 (biotipo V).

Tienen las siguientes características bioquímicas (biotipo I): 6: ONPG (b-galactosidasa) (-); ADH (Arginina dehidrolasa) (+); LDC (Lisina decarboxilasa) (+); 7: ODC (Ornitina decarboxilasa) (+); CIT (utilización del Citrato) (+); SH2 (producción de Sulfhídrico) (+). 0: URE (Ureasa) (-); TDA (Triptófano desaminasa) (-); IND (producción de Indol) (-). 4: VP (producción de Acetoína) (-); GEL (Gelatinasa) (-); GLU (fermentación de la Glucosa) (+). 5: MAN (fermentación del Manitol) (+); INO (fermentación del Inositol) (-); SOR (fermentación del Sorbitol) (+). 5: RHA (fermentación de la Ramnosa) (+); SAC (fermentación de la Sacarosa) (-); MEL (fermentación de la Melibiosa) (+). 2: AMY (fermentación de la Amigdalina) (-); ARA (fermentación de la Arabinosa) (+); OX (Citocromo oxidasa) (-). El biotipo II es similar al biotipo I, excepto en que no fermenta el Sorbitol. El biotipo III se diferencia del biotipo I en que carece del enzima Arginina dehidrolasa. El bio-



▲ API 20E de *SALMONELLA* SSP

tipo IV no fermenta la Melibiosa; y el biotipo V es el único que posee además el enzima b-galactosidasa. Este último biotipo, de acuerdo con sus características bioquímicas pertenece a *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* o subsp. IIIa. Como podemos observar en la Tabla 1, el biotipo más frecuente es el biotipo IV con 30 cepas, seguido del biotipo I con 22 cepas y los biotipos III con 3 cepas y los biotipos II y V con una cepa cada uno. En las aglutinaciones con los antiseros, podemos ver en la misma Tabla que los biotipos I, II y III aglutinan con los antiseros Poly B; mientras que 28 cepas del biotipo IV aglutinan con los antiseros Poly C y dos cepas de este biotipo aglutinan con los antiseros Poly A. La única cepa perteneciente al biotipo V aglutina con los antiseros Poly D.

La alta parasitación por *Salmonella* spp. encontrada por nosotros, en este trabajo, en *Gallotia galloti* (100%) procedente de la Isla de Tenerife, se corresponde con la encontrada por Monzón y cols. (26) en *Gallotia stehlini* en la Isla de Gran Canaria (100%); mientras que en los lagartos estudiados en otras regiones geográficas la parasitación por salmonelas es mucho menor, variando su porcentaje desde un 14% (34), 36% (4), 42% (19), 47,4 % (10), 48% (30) hasta el 50% (39). La explicación de esto puede ser que

estos estudios se han realizado con animales en cautividad y nosotros los hemos realizado con animales libres en la Naturaleza; y parece ser que en los animales en cautividad el porcentaje de parasitación por salmonelas es menor, tal como encontraron también Monzón y cols. (26) en el trabajo anteriormente citado, donde al mismo tiempo que estudiaron las salmonelas de *Gallotia stehlini*, también estudiaron la parasitación de lagartos no endémicos que se encontraban en cautividad, observando que los índices de parasitación por salmonelas eran mucho más bajos.

### Bibliografía

1. Bemis, D.A., Owston, M.A., Lickey, A.L., Kania, S.A., Ebner, P., Rohrbach, B.W., Ramsay, E.C.(2003). Comparison of phenotypic traits and genetic related-

ness of *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* isolates from a colony of ridgenose rattlesnakes with osteomyelitis. *J. Vet. Diagn. Invest.* 15(4): 382-7.

2. Blaylock, R.S. (2001). Normal oral bacterial flora from some southern African snakes. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 68(3): 175-82.
3. Burnham, B.R., Atchley, D.H., DeFusco, R.P., Ferris, K.E., Zicarelli, J.C., Lee, J.H., Angulo, F.J. (1998). Prevalence of fecal shedding of *Salmonella* organisms among captive green iguanas and potential public health implications. *J. Am. Vet. Assoc.* 213(1): 48-50.
4. Cambre, R.C., Green, D.E., Smith, E.E., Montali, R.J., Bush, M. (1980). Salmonellosis and arizonosis in the reptile collection at National Zoological Park. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 177(9): 800-3.
5. Cyriac, J., Wozniac, E.R. (2000). Infantile *Salmonella* meningitis associated with gecko-keeping. *Commun. Dis. Public Health.* 3(1): 66-7.
6. Dickinson, V.M., Duck, T., Schwalbe, C.R., Jarchow, J.L., Trueblood, M.H. (2001). Nasal and cloacal bacteria in free-ranging desert tortoises from the western United States. *J. Wildl. Dis.* 37(2): 252-7.
7. Ewing, W.H. (1986). *Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., New York, N.Y. USA.
8. Farmer III, J.J., McWhorter, A.C., Brenner, D.J., Morris, G.K. (1984). The *Salmonella*-

**Tabla 1.** Biotipos API20E y aglutinaciones con antiseros O de *Salmonella* polivalentes de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de *Gallotia galloti*.

BIOTIPO API20E	Nº CEPAS <i>Salmonella</i>	Antiseros O de <i>Salmonella</i>
BIOTIPO I	22	Poly B
BIOTIPO II	1	Poly B
BIOTIPO III	3	Poly B
BIOTIPO IV	28	Poly C
BIOTIPO IV	2	Poly A
BIOTIPO V	1	Poly D

- Arizona group of Enterobacteriaceae: nomenclature, classification and reporting. Clin. Microbiol. News. 6: 63-6.
9. Friedman, C.R., Torigian, C., Shillan, P.J., Hoffman R.E., Heltzel, D., Beebe, J.L., Malcolm, G., DeWitt, W.E., Hutwagner, L., Griffin, P.M. (1998). An outbreak of salmonellosis among children attending a reptile exhibit at a zoo. J. Pediatr. 132(5): 802-7.
  10. Geue, L., Löschner, U. (2002). Salmonella enterica in reptiles of German and Austrian origin. Vet. Microbiol. 84: 79-91.
  11. González, P., Pinto, F., Nogales, M., Jiménez-Asensio, J., Hernández, M., Cabrera, V. M. (1996). Phylogenetic relationships of the Canary Islands endemic lizard genus Gallotia (Sauria: Lacertidae), inferred from mitochondrial DNA sequences. Mol. Phylogenet. Evol. 6(1): 63-71.
  12. Gugnani, H.C., Oguike, J.U., Sakazaki, R. (1986). Salmonellae and other enteropathogenic bacteria in the intestines of wall geckos in Nigeria. Antonie Van Leeuwenhoek. 52(2): 117-20.
  13. Harvey, R.W., Price, T.H. (1983). Salmonella isolation from reptilian faeces: a discussion of appropriate cultural techniques. J. Hyg. (Lond.). 91(1): 25-32.
  14. Harwood, V.J., Butler, J., Parrish, D., Wagner, V. (1999). Isolation of fecal coliform bacteria from diamondback terrapin (*Malaclemys terrapin centrata*). Appl. Environ. Microbiol. 65(2): 865-7.
  15. Huchzermeyer, F.W., Henton, M.M., Riley, J., Agnagna, M. (2000). Aerobic intestinal flora of wild-caught African dwarf crocodiles *Osteolaemus tetraspis*. Onderstepoort J. Vet. Res. 67(3): 201-4.
  16. Isaza, R., Garner, M., Jacobson, E. (2000). Proliferative osteoarthritis and osteoarthrosis in 15 snakes. J. Zoo Wildl. Med. 31(1): 20-7.
  17. Jafari, M., Forsberg, J., Gilcher, R.O., Smith, J.W., Crutcher, J.M., McDermott, M., Brown, B.R., George, J.N. (2002). Salmonella sepsis caused by a platelet transfusion from a donor with a pet snake. New England J. Med. 347(14): 1075-78.
  18. Kaneene, J.B., Taylor, R.F., Sikarkie, J.G., Meyer, T.J., Richter, N.A. (1985). Disease patterns in the Detroit Zoo: a study of reptilian and amphibian populations from 1973 through 1983. J. Am. Vet. Med. Assoc. 187(11): 1132-3.
  19. Kourany, M., Telford, S.R. (1981). Lizards in the ecology of Salmonellosis in Panama. Appl. Environ. Microbiol. 41(5): 1248-53.
  20. Kourani, M., Telford, S.R. (1982). Salmonella and arizona infections of alimentary and reproductive tracts of Panamanian lizards. Infect. Immun. 36(1): 432-4.
  21. Madsen, M. (1996). Prevalence and serovar distribution of Salmonella in fresh and frozen meat from captive Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*). Int. J. Food Microbiol. 29(1): 111-8.
  22. Madsen, M., Hangartner, P., West, K., Kelly, P. (1998). Recovery rates, serotypes, and antimicrobial susceptibility patterns of Salmonellae isolated from cloacal swabs of wild Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*) in Zimbabwe. J. Zoo Wildl. Med. 29(1): 31-4.
  23. Minette, H.P. (1984). Epidemiologic aspects of salmonellosis in reptiles, amphibians, mollusks and crustaceans: a review. Int. J. Zoonoses. 11(1): 95-104.
  24. Mitchell, M.A., Shane, S.M. (2000). Preliminary findings of Salmonella spp. in captive green iguanas (*Iguana iguana*) and their environment. Prevent. Vet. Med. 45: 297-304.
  25. McWhorter-Murlin, A.C., Hickman-Brenner, F.W. (1994). Identification and serotyping of Salmonella and an update of the Kauffmann-White scheme; Appendix A, Kauffmann-White scheme, Alphabetical List of Salmonella serotypes (updated 1994); Appendix B, Kauffmann-White scheme, List of Salmonella serotypes by O Group (update 1994). Foodborne and Diarrheal Diseases Laboratory Section, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Ga. USA.
  26. Monzon Moreno, C., Ojeda Vargas, M.M., Echeita, A., Usera, M.A. (1995). Occurrence of Salmonella in cold-blooded animals in Gran Canaria, Canary Islands, Spain. Antonie Van Leeuwenhoek. 68(3): 191-4.
  27. Monzon, C., O'Shanahan, L., Echeita, M.A., Usera, M.A., Popoff, M.Y. (1993). Un nuevo serotipo de Salmonella: Gran Canaria. Enfem. Infec. Microbiol. Clin. 11(4): 228-9.
  28. Nowinski, R.J., Albert, M.C. (2000). Salmonella osteomyelitis secondary to iguana exposure. Clin. Orthop. 372: 250-3.
  29. Oboegbulem, S.I., Iseghohimhen, A.U. (1985). Wall Geckos (Geckonidae) as reservoirs of Salmonellae in Nigeria: problems for epidemiology and public health. Int. J. Zoonoses 12(3): 228-32.
  30. Onderka, D.K., Finlayson, M.C. (1985). Salmonellae and salmonellosis in captive reptiles. Can. J. Comp. Med. 49(3): 268-70.
  31. Oros, J., Rodríguez, J.L., Fernández, A., Herraez, P., Espinosa de los Monteros, A., Jacobson, E.R. (1998). Simultaneous occurrence of Salmonella arizonae in a sulfur crested cockatoo (*Cacatua galerita galerita*) and iguanas. Avian Dis. 42(4): 818-23.
  32. Pasmans, F., De Herdt, P., Dewulf, J., Haesebrouck, F. (2002). Pathogenesis of infections with Salmonella enterica subsp. enterica serovar Muenchen in the turtle *Trachemys scripta scripta*. Vet. Microbiol. 87(4): 315-25.
  33. Pasmans, F., Van Immerseel, F., Van den Broeck, W., Böttreau, E.,

- Veige, P., Ducatelle, R., Haesebrouck, F. (2003). Interactions of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Muenchen with intestinal explants of turtle *Trachemys scripta scripta*. *J. Comp. Pathol.* 128(2-3): 119-26.
34. Pflieger, S., Benyr, G., Sommer, R., Hassl, A. (2003). Pattern of *Salmonella* excretion in amphibians and reptiles in a vivarium. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 206(1): 53-9.
35. Popoff, M.Y., Bockemühl, J., Hickman-Brenner, F.W. (1997). Supplement 1996 (nº 40) to the Kauffmann-White scheme. *Res. Microbiol.* 148: 811-14.
36. Popoff, M.Y., Le Minor, L. (1997). Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars, 7th revision, WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris, France.
37. Ramsay, E.C. Daniel, G.B., Tryon, B.W., Merryman, J.I., Morris, P.J., Bemis, D.A. (2002). Osteomyelitis associated with *Salmonella enterica* SS arizonae in a colony of ridgenose rattlesnakes (*Crotalus willardi*). *J. Zoo Wildl. Med.* 33(4): 301-10.
38. Richard, M., Thorpe, R.S. (2001). Can microsatellites be used to infer phylogenies? Evidence from population affinities of the Western Canary Island Lizard (*Gallotia galloti*). *Mol. Phylogenet. Evol.* 20(3): 351-60.
39. Roggendorf, M., Muller, H.E. (1976). Enterobacteria of reptiles. *Zentralbl. Bakteriol.(Orig.A)*. 236(1): 22-35.
40. Sanyal, D., Douglas, T., Roberts, R. (1997). *Salmonella* infection acquired from reptilian pets. *Arch. Dis. Child.* 77: 345-6.
41. Thomas, A.D., Forbes-Faulkner, J.C., Speare, R., Murray, C. (2001). Salmonellosis in wildlife from Queensland. *J. Wildl. Dis.* 37(2): 229-38.
42. van der Walt, M.L., Huchzermeyer, F. W., Steyn, H.C. (1997). *Salmonella* isolated from crocodiles and other reptiles during the period 1985-1994 in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 64(4): 277-83.
43. Woodward, D.L., Khakhria, R., Johnson, W.M. (1997). Human salmonellosis associated with exotic pets. *J. Clin. Microbiol.* 35(11): 2786-90.