

PREVALENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS DE CEPAS MÓTILES DE *Aeromonas* AISLADAS DEL OSTIÓN DE MANGLE (*Crassostrea rhizophorae*)

Prevalence and Susceptibility to Antibiotics of Motile Strains of *Aeromonas* Isolated from the Mangrove Oyster (*Crassostrea rhizophorae*)

Daniel Muñoz^{1*}, Yeisy Castañeda de Fermín², Crucita Graü de Marín³ e Hilda Marval³

¹Liceo Bolivariano "José Silverio González". ²Colegio "Santo Ángel de la Guarda".

³Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas - INIA/Sucre-Nueva Esparta. * d_josem77@hotmail.com / danieljosemz@gmail.com

RESUMEN

Se investigó la prevalencia y susceptibilidad a antibióticos de formas móviles del género *Aeromonas* aisladas del ostión de mangle *Crassostrea rhizophorae* destinados para consumo humano. El estudio fue efectuado durante el período febrero-agosto 2007 en Laguna Grande del Obispo, Golfo de Cariaco, Venezuela. Para la detección, aislamiento y conteo de este grupo bacteriano se utilizó la metodología estándar de tubos múltiples. El perfil de susceptibilidad se realizó por la técnica de difusión en disco. El máximo recuento de *Aeromonas* spp. se registró en el mes de abril y fue de $1,1 \times 10^3$ NMP/g (Número Más Probable/gramo), y el mínimo, de <3 NMP/g en el mes de febrero. Del total de cepas aisladas, el mayor porcentaje de prevalencia se registró en *Aeromonas hydrophila* con 51,6%; seguida de *A. caviae* y *A. sobria* con 28,1 y 20,3%, respectivamente. En relación a la susceptibilidad a antibióticos, las cepas aisladas fueron 100% sensibles al imipenem y gentamicina, mientras que, superior al 70% de sensibilidad, se ubicaron los antibióticos amikacina, norfloxacin, ceftazidima, ciprofloxacina, polimixina B, sulfametoxazol-trimetoprim, aztreonam, ceftriaxona, tetraciclina y cloranfenicol; así mismo, se mostraron resistentes a amoxicilina y cefalotina (mayor a 80%) y furoxona (57,8%). La resistencia observada a antibióticos en las cepas estudiadas podría deberse al uso indiscriminado de antibióticos o condiciones sanitarias deficientes que favorecen la diseminación del microorganismo y la adquisición de R plásmidos y transposones que determinan la diseminación de resistencia antibiótica.

Palabras clave: Antibióticos, susceptibilidad, *Aeromonas* spp., ostión de mangle.

ABSTRACT

The prevalence and susceptibility to antibiotics was investigated in motile strains of the genus *Aeromonas* isolated from mangrove oysters, *Crassostrea rhizophorae* intended for human consumption. The study was conducted during February-August 2007 in Laguna Grande del Obispo, Sucre State, Gulf of Cariaco, Venezuela. The standard methodology of multiple tubes was used for detection, isolation and counting of this bacterial group. The susceptibility profile was made by the diffusion technique on disc. A maximum values of *Aeromonas* spp. count was reaches in April, $1,1 \times 10^3$ NML/g (number most likely/gram) and a minimum value of <3 NML/g in February. From the total number of isolated strains, the highest prevalence was recorded for *Aeromonas hydrophila* 51.6%; followed by *A. caviae* and *A. sobria* with 28.1 and 20.3%, respectively. With respect susceptibility to antibiotics, 100% of the isolated strains were sensitive to imipenem and gentamicin, while a sensibility higher than 70% was found in the antibiotics amikacin, norfloxacin, ceftazidime, ciprofloxacin, polymyxin B, sulfamethoxazole-trimetoprim, aztreonam, ceftriaxone, tetracycline and chloramphenicol. Finally, the strains were resistant to amoxicillin and cephalothin (more than 80%) and furoxone (57,8%). The observed resistance to antibiotics among the studied strains could be due to the indiscriminate use of antibiotics and poor sanitary conditions favoring the spread of the microorganism and the acquisition of R plasmids and transposons that determine the spread of antibiotic resistance.

Key words: Antibiotics, susceptibility, *Aeromonas* spp., mangrove oyster.

INTRODUCCIÓN

En Venezuela es común el consumo de mariscos crudos como el ostión de mangle (*Crassostrea rhizophorae*) especialmente en la región nororiental. Éstos son del agrado del público y se encuentran ampliamente distribuidos en el área. Los bivalvos son capaces de concentrar microorganismos en su interior debido a que se alimentan por mecanismos de filtración no selectiva, y como consecuencia, pueden ser reservorios de patógenos [21, 32, 33]. La flora bacteriana más común en bivalvos está compuesta por *Pseudomonas* spp., *Alteromonas* spp., miembros de la familia *Vibrionaceae* y *Aeromonas* spp.

El género *Aeromonas* está representado por bacilos rectos, Gram negativos, anaerobios facultativos, con flagelos principalmente polar y que presentan codificación genética para la síntesis de la enzima citocromo oxidasa. Con base a estas características, este género fue ubicado como perteneciente a la familia *Vibrionaceae*. Sin embargo, recientemente, basado en evidencias genéticas moleculares, este género fue ubicado en una familia diferente denominada *Aeromonadaceae* [40, 44].

La actual clasificación de este género incluye dos grupos bien definidos. El primer grupo en una sola especie psicotrófica y no mótil *Aeromonas salmonicida*, no patógena para los humanos. El segundo grupo consiste en aeromonas móviles que Popoff y col. [39] y Popoff [40] clasificaron en tres especies: *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae* y *A. sobria*. Este último grupo está asociado a diversas afecciones gastrointestinales y extraintestinales [14, 37].

Las especies del género *Aeromonas* son parte de la microflora de ambientes acuáticos, si bien su reservorio natural es aún desconocido [3]. Recientemente, *Aeromonas* spp. se ha considerado como un patógeno emergente y se estima que es el responsable de hasta el 13% de los casos de gastroenteritis reportados en los Estados Unidos [43].

Las bacterias del género *Aeromonas* han sido reportadas como agentes causales de infecciones clínicas intestinales y extraintestinales, principalmente en pacientes comprometidos inmunológicamente. Estos microorganismos son productores de otitis, meningitis, pericarditis, septicemia, infecciones urinarias y diarreas, siendo esta última el cuadro clínico con el que más se ha relacionado [6, 45].

Dentro del género *Aeromonas*, la especie más importante es *A. hydrophila*; las evidencias de patogenicidad provenientes de las propiedades de virulencia, tales como hemolisinas, citotoxinas y enterotoxinas y su asociación con diarreas hacen a este microorganismo de gran interés para los microbiólogos [30, 31]. Al respecto, un estudio realizado por Abeyta y col. [5] determinando los niveles de *Aeromonas hydrophila* en el área de cultivo de moluscos bivalvos de Grays Harbor, Washington, demostró que de los aislamientos probados, el 80% produjo una hemolisina, un rasgo que se correlaciona con

la producción de enterotoxinas y la patogenicidad de esta especie bacteriana.

Por otro lado, el uso indiscriminado de antibióticos en las prácticas médicas, veterinarias y agrícolas resulta en la descarga hacia el ambiente de antibióticos y bacterias resistentes a antibióticos [15, 41]. Los centros de atención en salud, especialmente los hospitales, constituyen importantes puntos de origen de estos desechos y la mayoría de estas descargas drenan al alcantarillado público. Sin embargo, algunos de éstos drenan directamente a un cuerpo receptor prácticamente sin ningún tratamiento, produciendo un fuerte impacto en la composición física, química y principalmente biológica de estas columnas de agua [46].

Los miembros del género *Aeromonas* han mostrado resistencia a un gran número de antibióticos como son: carbenicilina, ampicilina, y cefalosporinas de primera generación. Los mecanismos específicos responsables de esta resistencia están siendo debidamente estudiados y entre ellos se describen la producción de por lo menos cuatro tipos de betalactamasas [14]; de forma general, miembros del género *Aeromonas* es susceptible a la tetraciclina, sulfametoxazol-trimetoprim, clo-ranfenicol, aminoglucósidos y cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima, ceftriaxona) y quinolonas [26, 49].

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia de cepas de *aeromonas* móviles aisladas a partir de muestras de ostión de mangle *Crassostrea rhizophorae* destinadas para consumo humano, así como también determinar la susceptibilidad a antibióticos de este género bacteriano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y preparación de la muestra

Los muestreos fueron realizados cada mes durante siete meses, febrero-agosto del 2007, en Laguna Grande del Obispo, Golfo de Cariaco, Venezuela, estado Sucre (FIG. 1). Para la toma de muestras de *Crassostrea rhizophorae* en dos estaciones (E1 y E2) se escogieron al azar puntos de muestreo donde se seleccionaron raíces del mangle *Rhizophora mangle* para luego separar las ostras. Se tomaron tres muestras de ostras, aproximadamente unos 30 a 40 ejemplares en cada una de las estaciones. La longitud total mínima de cada ostra fue de 8 cm, tal como lo especifica la Gaceta Oficial N° 30.440, resolución 344 del 04 de julio 1974 [31]. Posteriormente se colocaron en bolsas plásticas herméticas etiquetadas y se mantuvieron en una cava con hielo para su transporte al laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Sucre/Nueva Esparta), donde se procesaron inmediatamente.

La preparación de los bivalvos para el análisis, incluyó la limpieza de las valvas, remoción del contenido de la valva, mezclado y dilución de la muestra de acuerdo con lo recomendado por Hunt y col. [27]. Para ello se pesaron 25 g del bivalvo

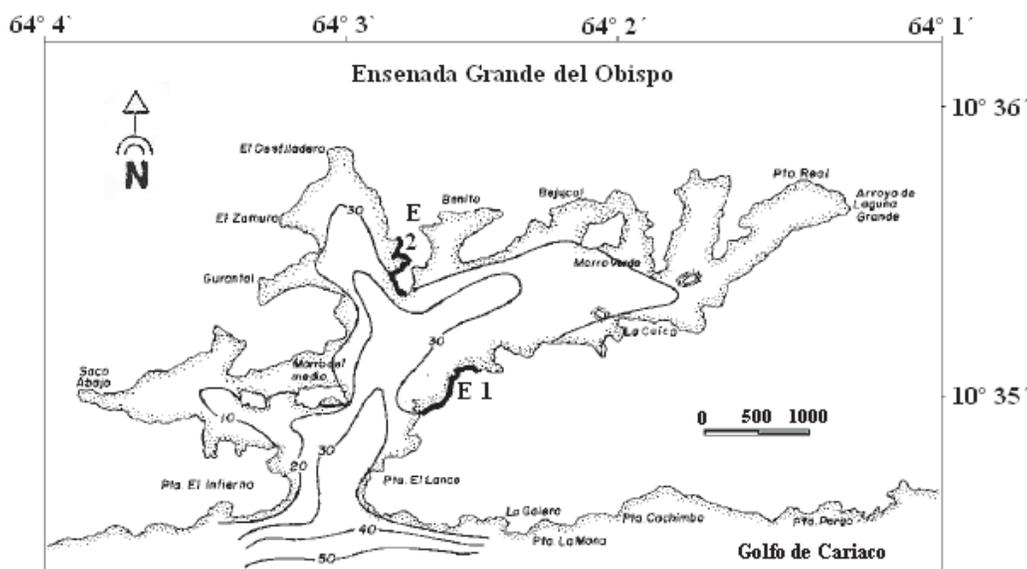


FIGURA 1. MAPA DE LA LAGUNA GRANDE DEL OBISPO, ESTADO SUCRE, DONDE SE SEÑALAN LAS ESTACIONES DE MUESTREO (E1 Y E2).

y fueron homogeneizados (Osterizer-Deluxe, Mod. 450, Venezuela) en 225 mL de agua peptonada (Merck) al 0,1%, para obtener una dilución de 10^{-1} , a partir de la cual se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-4} .

Recuento, aislamiento e identificación de *Aeromonas* spp.

Para determinar el número más probable (NMP) por gramo de muestras de *Aeromonas* spp. se utilizó la metodología descrita por Abeyta y Stelma [2] y las recomendaciones de Palumbo y col. [38]. Se tomó 1 mL de cada una de las diluciones realizadas en agua peptonada y se sembró en tres tubos que contenían 10 mL de caldo tripticasa de soya (Difco) más ampicilina (30 mg/L), incubando por 24 h a 37°C (Memmert B-30, Alemania), los tubos que presentaron turbidez se consideraron positivos y se les anotó como prueba presuntiva para determinar el NMP de *Aeromonas* /g de ostra, de acuerdo a los valores para tres tubos de la American Public Health Association (APHA) [1]. De los tubos positivos se tomó una asada y se estrió en la superficie de placas que contenían agar ampicilina almidón y se incubaron en anaerobiosis a 37°C por 24 h. También se estrieron en placas de agar McConkey incubándose en condiciones aerobias por el tiempo y temperatura ya descrita. Se aislaron mínimo cinco colonias de ambos medios. Las colonias aisladas en caldo tripticasa de soya (Difco) se les practicó coloración Gram, se sembraron en medio motilidad (Himedia), agar Tres Azucres Hierro (agar TSI, Himedia), además se le realizaron las pruebas de oxidasa e inhibición en presencia del vibriostato O/129, la prueba suicida (esta prueba resulta cuando ciertas cepas son inoculadas caldo nutritivo con glucosa al 0,5%. La glucosa suministrada suprime el ciclo de los ácidos tricarbónicos, lo que conduce a la acumulación de ácido acético y a la muerte celular; las cepas suicidas precipitaran observándose un sobrenadante muy claro y las cepas no suici-

das aparecerán uniformemente turbias), aerogenicidad, ornitina-lisina descarboxilasa y producción de indol [34, 35].

Ensayos de susceptibilidad a antibióticos

La susceptibilidad a antibióticos aplicada a los aislamientos obtenidos de *aeromonas* móviles fue realizado por el método de difusión en disco según Bauer y col. [10]. Se emplearon discos de antibióticos (Oxoid, Inglaterra): 30 µg de aztreonam (ATM), 30 µg de ceftazidina (CAZ), 25 µg de amoxicilina (AML), 30 µg de cloranfenicol (C), 30 µg de cefalotina (CF), 5 µg de ciprofloxacina (CIP), 15 unidades de eritromicina (E), 100 unidades de polimixina B (PB), 10 Unidades de gentamicina (CN), 30 unidades de Tetraciclina (TE), 30 µg de ceftriaxona (CRO), 10 µg de norfloxacina (NOR), 10 µg de imipenem (IMP), 300 µg de furoxona (F), 30 µg de amikacina (AK), 1,25/23,75 µg de sulfametozaxol-trimetoprim (SXT). El diámetro de la zona de inhibición de cada agente antimicrobiano fue comparado con el control *Escherichia coli* ATCC 25922. Los microorganismos fueron reportados como resistentes, sensibles e intermedios según los criterios del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios de los Estados Unidos de América (CLSI) [20].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Recuento e identificación de *Aeromonas* spp.

La variación del NMP/g para este grupo bacteriano mostró un valor máximo de $1,1 \times 10^3$ NMP/g durante el mes de abril y un valor mínimo de <3 NMP/g en febrero, en ambas estaciones de muestreo (FIG. 2). Se ha observado que la concentración de estos microorganismos varía según las estaciones del año. Al respecto, Villalobos y Elguezal [48] estudiaron la ocurrencia de *aeromonas* móviles en el bivalvo *Pinctada imbr-*

cata, obteniendo recuentos más elevados durante los meses febrero, abril y junio. Los investigadores lo atribuyeron a las altas precipitaciones que ocurrieron específicamente en esos meses, como es el caso que ocupa esta investigación, donde los recuentos mas elevados coincidieron con los meses marzo, abril, junio y julio, específicamente en la E2.

Ottaviani y col. [37] estudiaron la ocurrencia de *Aeromonas* spp. en el bivalvo *Mytilus galloprovincialis* obteniendo un 22% de positividad para este grupo bacteriano. Así mismo, los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con los de Abeyta y col. [4], los cuales analizaron la incidencia de aeromonas móviles en aguas marinas, sedimentos y moluscos bivalvos en los principales estuarios de Washington, Oregon y California de los EUA, encontrando aproximadamente un 50% de positividad del total de las muestras para este género bacteriano.

Se identificaron un total de 64 cepas de aeromonas móviles (FIG. 3), las especies identificadas fueron: *A. hydrophila* (33; 51,6%), *A. caviae* (18; 28,1%) y *A. sobria* (13; 20,3%). Es-

tos resultados concuerdan con los de Díaz de Tablante y col. [21], quienes enumeraron y caracterizaron *Aeromonas* spp. en productos de origen animal y vegetal, encontrando que en los productos de origen animal fue mayor la proporción de *A. hydrophila*, seguida por *A. caviae* y por último de *A. sobria*.

Los valores obtenidos para *A. hydrophila* en la presente investigación fue relativamente bajo en comparación con los reportados por Colburn y col. [18], quienes mencionan a este microorganismo como el patógeno potencial más frecuentemente aislado (78%) en ostras mantenidas en tanques en el área de Seattle, EUA.

Yaun y Lin [50] estudiaron la microbiología de pescados y mariscos frescos y procesados obtenidos en mercados minoristas y supermercados en Taipei, China, para determinar la contaminación por aeromonas móviles, encontrando que el 88% de las muestras de pescados y mariscos frescos analizados mostraban contaminación por este grupo bacteriano, reportándose además que, las cepas eran productoras de beta-hemolisinas. Estos resultados demuestran que los peces y

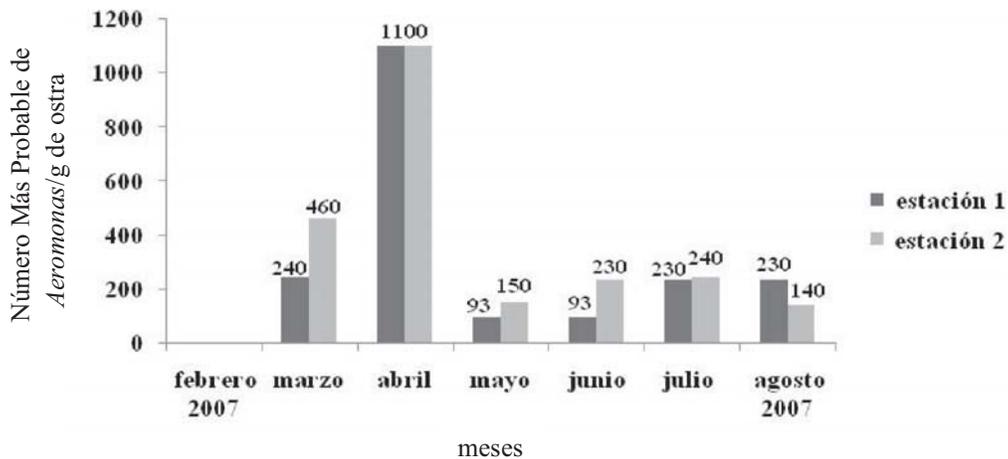


FIGURA 2. RECuento DE *Aeromonas* (NMP/G) EN MUESTRAS DE OSTIÓN DE MANGLE PROVENIENTES DE LAGUNA GRANDE DEL OBISPO, ESTADO SUCRE.

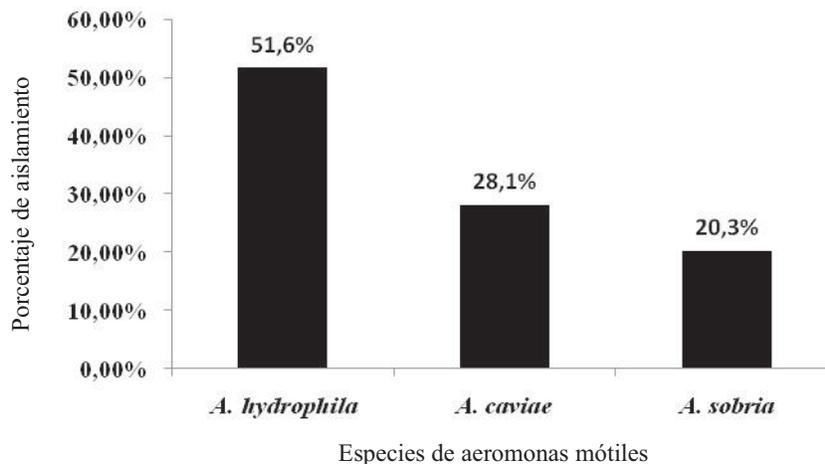


FIGURA 3. VALORES PORCENTUALES DE AISLAMIENTO DE *Aeromonas* MÓTILES EN MUESTRAS DE OSTIÓN DE MANGLE PROVENIENTES DE LAGUNA GRANDE DEL OBISPO, ESTADO SUCRE.

mariscos frescos son una fuente potencial importante de las especies de aeromonas virulentas, y pueden desempeñar un papel importante en la epidemiología de la gastroenteritis asociada a aeromonas.

En otro estudio, realizado por González y col. [24] sobre la detección de aeromonas móviles aisladas en pescados de agua dulce destinados para consumo humano, se identificaron las especies *A. hydrophila* y *A. sobria*, en una proporción de 29 y 19%, respectivamente. Estos autores mencionan que la alta incidencia de cepas pertenecientes a este grupo bacteriano, asociados a gastroenteritis, debe ser considerada como una preocupación potencial para la salud pública, en particular cuando hay una posibilidad de contaminación cruzada.

Colakoglu y col. [17] analizando mejillones y camarones comercializados en mercados locales en la región de Dardanelos en Turquía, encontrando que *A. hydrophila* fue la especie que más se aisló, con una frecuencia de 29,1%, lo cual concuerda con la observación de que este género podría recuperarse de individuos asintomáticos, es decir, que la posibilidad de existencia de portadores sanos hace que la manipulación del alimento sea un factor de riesgo en el consumo de estos moluscos. En el nororiente de Venezuela, Villalobos y Elguezabal [48] aislaron del bivalvo *Pinctada imbricata* a las especies *A. hydrophila*, *A. sobria* y *A. caviae*, detectando *A. hydrophila* en mayor proporción en ostras listas para el consumo humano.

A. hydrophila ha sido recuperada a partir de ostras implicadas en brotes de gastroenteritis [3] y se ha sugerido como causa de enfermedades diarreicas [9, 30]. La presencia de aeromonas en los alimentos no debe ser ignorada, se requiere mayor información para evaluar su significado en la salud pública, especialmente como agente causal de enfermedades de transmisión alimentarias.

A pesar de que existen evidencias que asocian los alimentos como el vehículo de transmisión de las infecciones gastrointestinales causadas por los miembros del género *Aeromonas* son pocos los brotes alimentarios documentados. Altwegg y col. [7] describieron un brote de gastroenteritis por consumo de un "cocktail" de camarones; otro brote documentado notable fue el reportado por Abeyta y col. [3] en donde hubo 472 casos asociados al consumo de ostras en Louisiana, E.U.A.

La mayoría de los autores refieren como probables enteropatógenos sólo a *A. hydrophila* y *A. sobria* [25]. A pesar de ello, en muchas de las investigaciones, *A. caviae* constituye la especie aislada con mayor frecuencia a partir de las heces de pacientes con diarrea, cuyas cifras alcanzan hasta un 79,8% [42]. En la emergencia pediátrica del Servicio Autónomo Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá", de Cumaná, estado Sucre, esta última especie representó el 50% del total de aeromonas aisladas en niños menores de 6 años como agente causal de síndrome diarreico agudo [6].

Prueba de susceptibilidad a antibióticos

Al determinar la susceptibilidad de las 64 cepas de *Aeromonas*, se observó una resistencia a los antibióticos amoxicilina (60; 93,8%), cefalotina (55; 85,9%) y furoxona (37; 57,8%). Se aprecian bajos porcentajes de resistencia a los fármacos aztreonam, ciprofloxacina, ceftriaxona, amikacina y polimixina B (1; 1,6%, cada una), seguida de ceftazidima (4; 6,2%), sulfametoxazol-trimetoprim (6; 9,4%), Tetraciclina (9; 14,1%) y cloranfenicol (12; 18,8%). Las cepas estudiadas presentaron un 42,3% de sensibilidad intermedia a la eritromicina y 31,3% de resistencia a esta misma (TABLA I).

Se destaca el 100% de sensibilidad a gentamicina e imipenem, mayor del 80% en aztreonam (54; 84,4%), ciprofloxacina (59; 92,1%), norfloxacina (62; 96,9%), ceftriaxona (55; 85,9%), ceftazidima (60; 93,8%), amikacina (63; 98,4%), sulfametoxazol-trimetoprim (56; 87,5%) y polimixina B (59; 92,2%) y mayor al 70% a la tetraciclina (50; 78,1%) y cloranfenicol (47; 73,4%).

Las cepas del género *Aeromonas* aisladas de distintas muestras intestinales, extraintestinales y ambientales, han estado sujetas a numerosos estudios de susceptibilidad antibiótica en diferentes regiones del mundo [13, 45]. Estas investigaciones han arribado a conclusiones que, de forma general el género *Aeromonas* es resistente a las penicilinas y algunas cefalosporinas de primera generación y sensibles a los antibióticos sulfametoxazol-trimetoprim, aminoglicosidos (gentamicina, amikacina), cloranfenicol, quinolonas y cefalosporinas de tercera generación [14, 22, 23].

El grupo de aeromonas móviles aisladas presentó una susceptibilidad variable a los antibióticos estudiados. Los altos niveles de resistencia observados a la amoxicilina (93,8%) y cefalotina (85,9%) son similares a los publicados por Ottaviani y col. [37], quienes al realizar estudios de susceptibilidad antibiótica en cepas de *Aeromonas* aisladas de mejillones observaron resistencia a ambos antibióticos. Albarado y col. [6], analizando la susceptibilidad en cepas de *Aeromonas* spp. aisladas de pacientes con diarrea, demostró altos porcentajes de resistencia a la cefalotina y a la furoxona por parte de este género.

Se plantea que la buena capacidad de inducción de la amoxicilina asociada a su susceptibilidad a la hidrólisis por β -lactamasas, reconocido como el más importante mecanismo de resistencia, podría explicar en parte la resistencia a las penicilinas que presentan la mayor parte de las especies de *Aeromonas* [11, 14, 26].

En relación con la eritromicina, las cepas de *Aeromonas* presentaron una resistencia de 31,3%; resultados similares fueron obtenidos por Álvarez y col. [8] en un estudio realizado en el Lago de Valencia, Venezuela, sobre los patrones de sensibilidad de bacterias aisladas de tilapias silvestres (*Oreochromis mossambicus*), aguas y sedimentos, encontrando en cepas de *Aeromonas hydrophila* altos niveles de resistencia a la eritromicina. Oliva y García [36] mencionan que, la resistencia

TABLA I
**SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS DE CEPAS DE *Aeromonas* MÓTILES AISLADAS DEL OSTIÓN DE MANGLE
Crassostrea rhizophorae, PROVENIENTES DE LAGUNA GRANDE DEL OBISPO, ESTADO SUCRE**

Antibiótico	Susceptibilidad					
	Sensible		Intermedia		Resistente	
	Nº de cepas	%	Nº de cepas	%	Nº de cepas	%
Amoxicilina	0	0,0	4	6,2	60	93,8
Aztreonam	54	84,4	9	14	1	1,6
Ciprofloxacina	59	92,1	4	6,3	1	1,6
Norfloxacina	62	96,9	2	3,1	0	0,0
Ceftriaxona	55	85,9	8	12,5	1	1,6
Ceftazidima	60	93,8	0	0,0	4	6,2
Imipenem	64	100	0	0,0	0	0,0
Gentamicina	64	100	0	0,0	0	0,0
Amikacina	63	98,4	0	0,0	1	1,6
Eritromicina	17	26,6	27	42,2	20	31,3
Cefalotina	3	4,7	6	9,4	55	85,9
Sulfametoxazol-Trimetoprim	56	87,5	2	3,1	6	9,4
Tetraciclina	50	78,1	5	7,8	9	14,1
Furoxona	27	42,2	0	0,0	37	57,8
Polimixina B	59	92,2	4	6,2	1	1,6
Cloranfenicol	47	73,4	5	7,8	12	18,8

a los macrólidos, como lo es la eritromicina, puede aparecer por disminución de la permeabilidad o una mutación que codifica un cambio en la proteína receptora en los ribosomas 50S, o ser plasmídica y producir la alteración de la subunidad 23S de los ribosomas 50S a causa de una metilación de la adenina. Es posible que la resistencia mostrada a este fármaco por las cepas bacterianas probadas en este estudio sea debido a algunos de estos mecanismos.

Estudios realizados plantean que se han aislado en ambientes acuáticos cepas de *Aeromonas* spp. resistentes y que esta resistencia es mediada principalmente por plásmidos [8]. Chandrasekan y col. [19] consideran que el agua de lluvia y la escorrentía de ésta, desplaza bacterias terrestres antibiótico-resistentes hacia cuerpos de agua marinas, lo que también puede ocurrir en cuerpos de agua dulce.

Por su parte, los aminoglucósidos (gentamicina y amikacina), mostraron elevada sensibilidad. Junco y col. [29] en una revisión respecto al género *Aeromonas* spp. en muestras ambientales, también obtuvieron buenos resultados de sensibilidad a estos fármacos. Cuando se revisa la literatura científica relacionada con los patrones de susceptibilidad en este género bacteriano sobre los antibióticos imipenem, polimixina B, tetraciclina y cloranfenicol, se encuentran los resultados del trabajo de Ottaviani y col. [37], el cual demostró que estos compuestos presentaron buena actividad sobre el grupo de aeromonas

móviles aisladas de mejillones para consumo humano, resultados que coinciden con los obtenidos en el presente estudio.

Investigaciones realizadas por Hsueh y col. [28] en China, sobre la susceptibilidad antimicrobiana en sepsis recurrentes causadas por microorganismos pertenecientes al género *Aeromonas*, y por Tzoc y col. [46] en cepas de *Aeromonas* aisladas de efluentes residuales de hospitales, demostraron la alta sensibilidad de este género a la gentamicina y amikacina. Lo que indica que probablemente estos antimicrobianos sean de uso reducido o casi nulo por parte de la población general y su uso restringido en el ámbito hospitalario, quizás debido a los efectos tóxicos que produce su administración, especialmente la gentamicina.

De igual modo, se observó una alta sensibilidad de las cepas de *Aeromonas* a las cefalosporinas de tercera generación (ceftazidima y ceftriaxona) y las quinolonas (ciprofloxacina y norfloxacina). Al respecto, Castro-Escarpulli y col. [16], en un estudio realizado en México con 151 cepas aisladas de muestras clínicas, agua y pescado mostraron que la mayoría de las cepas eran sensibles a cefalosporinas de segunda y tercera generación así como a las quinolonas. Estos resultados evidenciaron que las cefalosporinas y quinolonas pueden utilizarse de forma segura para el tratamiento de las infecciones causadas por las *Aeromonas* y en caso de requerirse por infección de larga evolución o crónica, así como en individuos inmunocomprometidos.

En las infecciones por *Aeromonas* spp. las drogas utilizadas son sulfametoxazol-trimetoprim en las formas complicadas, y en las formas generalizadas se recomienda el uso por vía parenteral de un aminoglicósido o una cefalosporina de tercera generación [47], las cepas estudiadas en el presente trabajo resultaron sensibles a estos antibióticos.

Los resultados obtenidos en este estudio demostraron que gran cantidad de las cepas probadas presentaron resistencia a varios de los fármacos usados. En este sentido, Biyela y Bezuidenhout [12] han establecido que, la multiresistencia a antibióticos provee a las cepas de ventajas selectivas y la evidencia de laboratorio demuestra que bacterias con resistencia a múltiples antibióticos pueden mantener ésta por muchos años en medios de mantenimiento y sin la incorporación de antibiótico. En contraste, en un medio donde existe presión hacia la transferencia de genes de resistencia, como son los ambientes acuáticos, existe una gran probabilidad de que la eventual reutilización de agua en actividades como la navegación, recreación, pesca, entre otras, permita la llegada de cepas multiresistentes al ser humano.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio han demostrado la presencia de especies mótils del género *Aeromonas*, considerados como patógenos, los cuales pudieran significativamente contribuir en la aparición de brotes de gastroenteritis y otras afecciones entéricas asociadas al consumo de ostras en forma cruda.

La especie que resultó con mayor porcentaje de prevalencia fue *A. hydrophila* (51,6%), seguida de *A. caviae* (28,1%) y *A. sobria* (20,3%).

Las especies de *Aeromonas* aisladas presentaron buen comportamiento frente a 10 de los 16 antimicrobianos probados, obteniéndose para los casos específicos de gentamicina, imipenem y amikacina, 100% de sensibilidad. Hallazgos que sirven de base para recomendarlos como antibióticos para el tratamiento de infecciones gastrointestinales.

Se comprobó la resistencia por parte de las cepas de *Aeromonas* para al menos seis de los antibióticos probados, siendo los más destacados amoxicilina, cefalotina, furoxona y eritromicina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of food**. C. Vanderzant and D.F. Splittatoesser (Eds.). Washington, D.C. U.S.A. 1.134 pp. 1992.
- [2] ABEYTA, C.; STELMA, G. Isolation and identification of motile *Aeromonas* species. In: **Bacteriological Analytical Manual**. 6th Ed. Arlington, Virginia. P. 30.01. 1984.
- [3] ABEYTA, C.; KAYSNER, C.; WEKELL, M.; SULLIVAN, J.; STELMA, G. Recovery of *Aeromonas hydrophila* from oysters implicated in an outbreak of foodborne illness. **J. Food Protect.** 49: 643-646. 1986.
- [4] ABEYTA, C.; KAYSNER, C.A.; WEKELL, M.M.; STOTT, R.F. Incidence of motile aeromonads from United States West Coast shellfish growing estuaries. **J. Food Protect.** 53 (10): 849-855. 1990.
- [5] ABEYTA, C.; WEAGANT, S.; KAYSNER, C.; WEKELL, M.; STOTT, R.; KRANE, M.; PEELER, J. *Aeromonas hydrophila* in shellfish growing waters: incidence and media evaluation. **J. Food Protect.** 52(1): 7-12. 1989.
- [6] ALBARADO, L.; SAMPER, I.; GUZMAN, M. *Aeromonas* spp. como agente causal de síndrome diarreico agudo en niños menores de 6 años de edad. **Kasmera.** 33 (1): 7-15. 2005.
- [7] ALTWEGG, M.; MARTINETTE, L.; LÜTHY, J.; ROHRBACH, M. *Aeromonas*-associated gastroenteritis after consumption of contaminated shrimp. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.** 10: 41-5. 1991.
- [8] ÁLVAREZ, J.; AGURTO, C.; ÁLVAREZ, A. Resistencia antimicrobiana en bacterias aisladas de tilapias, agua y sedimento en Venezuela. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XIV (6): 491-499. 2004.
- [9] BAUAB, T.; LEVY, C.; RODRÍGUEZ, J.; PASETTO-FALCAO, D. Niche-specific association of *Aeromonas* ribotypes from human and environmental origen. **Microbiol. Immunol.** 47: 7-16. 2003.
- [10] BAUER, A.; KIRBY, W.; SHERRIS, I.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing a standardized single disk method. **Am. J. Clin. Pathol.** 45: 493-496. 1966.
- [11] BENASSI, F.O.; VERGARA, M.; VON SPECHT, M.H.; GARCÍA, M.; QUIROGA, M. Estudio de susceptibilidad a antibióticos β lactámicos en *Aeromonas* spp. de origen clínico, animal y ambiental. **Rev. Arg. de Microbiol.** 33: 47- 51. 2001.
- [12] BIYELA, P.; BEZUIDENHOUT, C. The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistant genes. **Water Sci. and Technol.** 50 (1): 45-50. 2004.
- [13] BRAVO-FARIÑAS, L.; CABRERA-RODRÍGUEZ, L.; RAMÍREZ, M.; LLOP- HERNÁNDEZ, A.; VERDECÍA-PÉREZ, J.; BORREGO-HERNÁNDEZ, G.; FERNÁNDEZ-ABREU, A. Resistencia antimicrobiana en cepas de *Aeromonas* spp. aisladas de pacientes con bacteriemia. **Rev. Biomed.** 18:176-181. 2007
- [14] CABRERA, L.E.; CASTRO, G.; RAMÍREZ, M.; LLOP, A., LLANES, R.; CASTAÑEDA, N.; FERNÁNDEZ, A.; BRAVO, L.F. Aislamiento e identificación de especies pertenecientes a los géneros *Aeromonas*, *Vibrio* y

- Plesiomonas* procedentes de muestras extra-intestinales en Cuba. **Rev. Chil. Infect.** 24 (3): 204-208. 2007.
- [15] CASTAÑEDA, Y.; LOPEZ, P.; FIGUEROA, Y.; FUENTES, J. Susceptibilidad a antibióticos de bacterias indicadoras de contaminación fecal aisladas de aguas y sedimentos marinos. **Saber.** 21 (1): 12-19. 2009.
- [16] CASTRO-ESCARPULLI, G.; AGUILERA, M.; GIONO, S.; HERNANDEZ, C.; RODRIGUEZ, M.; SOLER, L.; APARICIO, G.; FIGUERAS, M. El género *Aeromonas*. ¿Un patógeno importante en México? **Enf. Infect. y Micro.** 22 (4): 206-216. 2002.
- [17] COLAKOGLU, F.; SARMAK, A.; KOSEOGLU, B. Occurrence of *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. in shellfish harvested off Dardanelles coast of Turkey. **Food Contr.** 17 (8): 648-652. 2006.
- [18] COULBURN, K.; KAYSNER, A.; WEKELL, J.; MATCHES, C.; ABEYTA, R. Microbiological quality of oysters and water of live holding tanks in Seattle. **J. Food Protect.** 52 (2): 100-104. 1989.
- [19] CHANDRASEKAN, S.; BALAKRISHNAN, V.; LALITHAKUMARI, D. Transfer and expression of a multiple antibiotic resistance plasmid in marine bacteria. **Curr. Microbiol.** 37: 347-351. 1998.
- [20] CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance standards of antimicrobial susceptibility testing: seventeenth informational supplement. M100-S17. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute. 27 (1): 177. 2007.
- [21] DIAZ DE T., R.; MARTÍNEZ, A.; TAPIA DE D., M.; TABLANTE, A.; TORO, S.; MUÑOZ, F. Enumeración y caracterización de *Aeromonas* sp. en productos de origen animal y vegetal. **II Congreso Latinoamericano de Microbiología.** Caracas 5-10 de noviembre. Venezuela. Pp. 72. 1989.
- [22] EVANGELISTA-BARRETO, N.; VIEIRA, R.; CARVALHO, C.; TORRES, R.; SANTANNA, E.; RODRIGUES, D.; REIS, C. *Aeromonas* spp. isolated from oysters (*Crassostrea rhizophorae*) from a natural oyster bed, Ceará, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.** 48 (3): 129-133. 2006.
- [23] FRÍAS-SALCEDO, J.A.; DÍAZ-BARRIOS, R.E. El género *Aeromonas* como patógeno humano. **Rev. Enfermed. Infec. Ped.** 15 (58):49-53. 2001.
- [24] GONZÁLEZ, C.; SANTOS, J.; GARCÍA-LÓPEZ, M.; GONZÁLEZ, N.; OTERO, A. Mesophilic aeromonads in wild and aquacultured freshwater fish. **J. Food Protect.** 64 (5): 687-91. 2001.
- [25] GONZÁLEZ, C.; SANTOS, J.; GARCÍA-LÓPEZ, M.; OTERO, A. Virulence markers in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* biovar *sobria* isolates from freshwater fish and from a diarrhoea case. **J. Appl. Microbiol.** 93 (3):414-419. 2002.
- [26] GOÑI-URRIZA, M.; CAPDEPUY, M.; ARPIN, C.; RAYMOND, N.; CAUMETTE, P. Impact of the urban effluent on antibiotic resistance of riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* spp. **Appl. Environ. Microbiol.** 66: 125-32. 2000.
- [27] HUNT, D. A.; MIESCIER, J.; REDMAN, J.; SALINGER, A.; LUCAS, J. Molluscan shellfish, fresh frozen oyster, mussels or clams. Cap. 43. In: **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 2nd Ed. Marvin L. Speck, (Ed.). Washington, D. C., U.S.A. Pp. 590-610. 1976.
- [28] HSUEH, P.; TENG, L.; LEE, L.; YANG, P.; CHEN, Y.; HO, S. Indwelling device-related and recurrent infections due to *Aeromonas* species. **Clin. Infect. Dis.** 26: 651-658. 1998.
- [29] JUNCO, R.; SUAREZ, M.; WENG, Z.; CHIROLLES, S.; GONZALEZ, M.; DIAZ, R.; RODRIGUEZ, M. Sensibilidad antimicrobiana en bacterias de origen ambiental. **Hig. Sanid. Ambient.** 6: 150-159. 2006.
- [30] LONGA, A.; VIZCAYA, L.; NIEVES, B.; BRAVO, L.; MORIER, L.; PEREZ-SCHAEL, I. Factores de virulencia asociados a la enteropatogenicidad en cepas de *Aeromonas* spp. aisladas de niños con diarrea en Mérida, Venezuela. **Rev. Cub. Med. Trop.** 57 (2):85-91. 2005.
- [31] MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRÍA (MAC). Gaceta Oficial N° 30.440. Resolución N° 344 Extraordinario, del 04-07-1974. Normas para actividades de captura, transporte y comercialización de moluscos bivalvos desde los centros y/o sitios de recolección. Caracas, D.F. Venezuela. 4 pp. 1974.
- [32] MONFORT, P.; BALEUX, B. Distribution and survival of motile *Aeromonas* spp. in Brackish water receiving sewage treatment effluent. **Appl. Environ. Microbiol.** 57 (9): 2459-2467. 1991.
- [33] MUÑOZ, D.; GRAÜ DE M., C.; MARTÍNEZ, C.; MARVAL, H.; ZERPA, A. Prevalencia de *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* spp. y enterobacterias en carne de pepitona, *Arca zebra*, comercializada en Cumaná, Venezuela. **Zoot. Trop.** 26 (4): 505-513. 2008.
- [34] NAMDARI, H.; BOTTONE, E. Suicide phenomenon in mesophilic aeromonads as a basis for species identification. **Appl. Environ. Microbiol.** 27 (4): 788-789. 1989.
- [35] NAMDARI, H.; CABELLI, V. The suicide phenomenon in motile aeromonads. **Appl. Environ. Microbiol.** 55 (3): 543-547. 1989.
- [36] OLIVA, M.; GARCIA, J. Eritromicina. Descubrimiento, características y aplicaciones. **OFFARM.** 21 (2): 78-82. 2002.

- [37] OTTAVIANI, D.; SANTARELLI, S.; BACCHIOCCHI, S.; MASINI, L.; GHITTINO, C.; BACCHIOCCHI, I. Occurrence and characterization of *Aeromonas* spp. in mussels from the Adriatic Sea. **Food Microbiol.** 23 (5): 418-422. 2006.
- [38] PALUMBO, S.; FELICISIMA, M.; WILLIAMS, R.; BUCHANAN, R.; THAYER, D. Starch ampicilina gar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. **Appl. Environ. Microbiol.** 20 (4): 1027-1030. 1985.
- [39] POPOFF, M.; COYNAULT, C.; KIREDJIAN, M.; LEMELIN, M. Polynucleotide sequence relatedness among motile *Aeromonas* species. **Curr. Microbiol.** 5: 109. 1981.
- [40] DASKALOV, H. The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. **Food Contr.** 17: 474-483. 2006.
- [41] RIVERA-TAPIA, J.; CEDILLO-RAMÍREZ, L. Evaluación de la resistencia a antibióticos en enterobacterias aisladas de aguas contaminadas. **Rev. Biomed.** 16:151-152. 2005.
- [42] SAN JOAQUIN, V.; PICKETT, D. *Aeromonas*-associated gastroenteritis in children. **Pediatr. Infect. Dis. J.** 7: 53-57. 1998.
- [43] SENDEROVICH, Y.; GERSHTEIN, Y.; HALEWA, E.; HALPERN, M. *Vibrio cholerae* and *Aeromonas*: do they share a mutual host? **ISME J.** 2 (3): 276-83. 2008.
- [44] SOLER, L.; MARCO, F.; VILA, J.; CHACÓN, M.; GUERRO, J.; FIGUERAS, M. Evaluation of two miniaturized systems, MicroScan W/A and BBL crystal E/NF, for identification of clinical isolates of *Aeromonas* spp. **J. Clin. Microbiol.** 41 (12): 5732-5734. 2003.
- [45] TEQUIANES-BRAVO, L.; PÉREZ-GONZÁLEZ, D.; GONZÁLEZ-MALVÁEZ, M.; FLORES-PIMENTEL, M.; MARROQUÍN-SEGURA, R. Aislamiento de *Aeromonas* productoras de aerolisina y enterotoxina, en muestras de agua potable en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza y otras dependencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. **Bioquim.** 30 (1): 23-29. 2005.
- [46] TZOC, E.; ANAS, M.; VALIENTE, C. Efectos de las aguas residuales hospitalarias sobre los patrones de resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Aeromonas* sp. **Rev. Biomed.** 15:165-172. 2004.
- [47] VALDÉS-DAPENA, M.M. *Aeromonas* y *Plesiomonas*. Tomo I. En: **Microbiología y Parasitología Médica**. Llop, A; Valdés-Dapena, M. M.; Zuazo, J.L. (Eds) Editorial Ciencias Médicas. Pp. 341-346. 2001.
- [48] VILLALOBOS, L.; ELGUEZÁBAL, L. Microbiological quality of the bivalve *Pinctada imbricata* commercialized in Cumaná, Venezuela. **Acta Cient. Ven.** 52 (1): 55-61. 2001.
- [49] WEN-CHIEN, K.; HSIU-MEI, W.; TSUNG-CHAIN, C.; JING-JOU, Y.; JIUNN-JONG, W. Inducible β -Lactam resistance in *Aeromonas hydrophila*: therapeutic challenge for antimicrobial therapy. **J. Clin. Microbiol.** 36 (11): 3188-92. 1998.
- [50] YAUN, S.; LIN, L. Isolation and characterization of *Aeromonas* from seafoods in Taipei. **Chinesse J. of Microbiol. and Immunol.** 26 (2):78-85. 1993.