

086545071

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

---

DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



ESTUDIO IN VITRO DE ANTIBIÓTICOS CONTRA BACTERIAS  
PATOGENAS AISLADAS EN BAGRE DE CANAL  
(*L. punctatus*) Y CARPA COMUN (*C. carpio*).

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A

J. JESUS DIAZ BARAJAS

GUADALAJARA, JALISCO. JULIO DE 1996

## TITULO

ESTUDIO *IN VITRO* DE ANTIBIOTICOS  
CONTRA BACTERIAS PATOGENAS AISLADAS  
EN BAGRE DE CANAL (*I.punctatus*) Y CARPA  
COMUN (*C. carpio*).



Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias  
División de Ciencias Biológicas y Ambientales

1168/95

C. JOSE DE JESUS DIAZ BARAJAS  
P R E S E N T E . -

Manifestamos a usted, que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "ESTUDIO IN VITRO DE ANTIBIOTICOS CONTRA BACTERIAS PATOGENAS AISLADAS EN BAGRE DE CANAL (I. punctatus) Y CARPA COMUN (C. carpio) ", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicha tesis el DR. HUGO CASTAÑEDA VAZQUEZ.

A T E N T A M E N T E  
"PIENSA Y TRABAJA"

Las agujas, Zapopan, Jal., 04 de Septiembre de 1995  
EL DIRECTOR

  
M.C. ALFONSO E. ISLAS RODRIGUEZ

EL SECRETARIO

  
OCEAN. SALVADOR VELAZQUEZ MAGAÑA

c.c.p.- Dr. Hugo Castañeda Vázquez.-Director de Tesis.-pte.  
c.c.p.- El expediente del alumno.  
c.c.p.- Minutario

AEIR/SVM/mahs.

C.U.C.B.A.



DIV. DE CS.  
BIOLOGICAS Y  
AMBIENTALES

**DR. ALFONSO E. ISLAS RODRIGUEZ**  
**DIRECTOR DE LA DIVISION DE CIENCIAS**  
**BIOLOGICAS Y AMBIENTALES**  
**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**P R E S E N T E.-**

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó el (la) pasante:

**DIAZ BARAJAS JOSE DE JESUS**

Código 086545071 con el título "ESTUDIO IN VITRO DE ANTIBIOTICOS

CONTRA BACTERIAS PATOGENAS AISLADAS EN BAGRE DE CANAL (I. punctatus) y CARPA COMUN (C. carpio)".

considerando que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión y en su caso programación de fecha de exámenes de tesis y profesional respectivos.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que se sirva brindar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

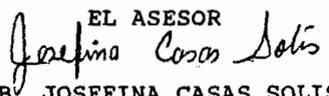
A T E N T A M E N T E

Las Agujas, Zapopan, Jal., a 30 de Mayo 1996

EL DIRECTOR DE TESIS

  
DR. HUGO CASTAÑEDA VAZQUEZ  
 NOMBRE Y FIRMA

EL ASESOR

  
O.F.B. JOSEFINA CASAS SOLIS  
 NOMBRE Y FIRMA

SINODALES

1 DRA. GALINA ZAITSEVA PETROVNA

2 DR. SERGIO AGUILAR BENAVIDES

3 M.C. MARGARITA BONILLA MORENO


## AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Dr. Hugo Castañeda Vazquez por haberme brindado la oportunidad de realizar mi tesis, y por su valioso apoyo durante la realización de este trabajo, sinceramente muchas gracias.

A mi asesor de tesis Q. F. B. Josefina Casas Solís por su amistad, tiempo y su importante apoyo en todo momento.

Al Q. F. B. Adolfo Cárdenas y al Biol. Roberto Vázquez Cabrales por su asesoría e invaluable consejos que me brindaron.

A todos mis compañeros del Laboratorio de Microbiología por su amistad y apoyo a lo largo de este trabajo.

A mis sinodales :

Dr. Sergio Aguilar Benavides

M. en C. Margarita Bonilla Moreno

Dra. Galina Zaitseva Petrovna

Por sus valiosos e importantes consejos.

A la Universidad de Guadalajara por la oportunidad que me brindó de realizar mis estudios profesionales.

A mis maestros: pilares de mi formación, gracias por darme su sabiduría y enseñanzas que siempre me ayudaron a prepararme mejor.



## DEDICATORIAS

A Dios...

Por ser la luz que me guía y acompaña en todos los momentos de mi vida. Gracias señor por permitirme alcanzar esta meta por siempre anhelada.

A mis padres Jesus y Amelia gracias por su paciencia, comprensión, apoyo y cariño. Hoy les dedico este trabajo con el mismo amor y respeto que siempre me han demostrado.

A mis hermanos Miriam, Carlos, Argelia y Adrián por su apoyo y amistad.

## INDICE

	<b>página</b>
<b>Resumen</b>	<b>i</b>
<b>I. INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>II. ANTECEDENTES</b>	<b>13</b>
<b>III. JUSTIFICACION</b>	<b>17</b>
<b>IV. HIPOTESIS</b>	<b>18</b>
<b>V. OBJETIVOS</b>	<b>19</b>
<b>VI. MATERIALES Y METODOS</b>	<b>20</b>
<b>VII. RESULTADOS</b>	<b>28</b>
<b>VIII. DISCUSION</b>	<b>59</b>
<b>IX. CONCLUSIONES</b>	<b>63</b>
<b>X. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>64</b>

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fué comparar la actividad *in vitro* de diferentes sustancias antimicrobianas contra bacterias patógenas aisladas en bagre de canal (*I. punctatus*) y carpa común (*C. carpio*).

Se utilizaron multidiscos impregnados con antimicrobianos para bacterias Gram positivas y Gram negativas, también se utilizaron tres diferentes tipos de sulfamidas.

Las pruebas para evaluar la actividad antimicrobiana se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de la División de Ciencias Biológicas de la U. de G.

Para determinar la sensibilidad de las bacterias a los antimicrobianos fueron utilizados dos métodos

- a ) Prueba de Kirby - Bauer ( multidiscos para microorganismos Gram positivos y Gram negativos ).
- b ) Prueba de dilución en caldo.



En la primera prueba también llamada de difusión en disco se observó que el 53 % de las bacterias presentaron resistencia a la mayoría de los antimicrobianos para microorganismos Gram negativos, y el 47 % restante mostraron ser sensibles a la mayoría de antimicrobianos para microorganismos Gram negativos. Así mismo se observó que el 93 % de las mismas bacterias mostraron resistencia a la mayoría de los antimicrobianos para Gram positivos, y el 7 % restante presentaron sensibilidad a la mayoría de los mismos antimicrobianos.

En la segunda prueba se determinó la concentración mínima inhibitoria ( CMI ) de tres diferentes tipos de sulfamidas ( sulfamerazina, sulfadiazina y sulfatiazol ), y se observó que la CMI de las tres sulfamidas varía según el género de la bacteria y el tipo de sulfamida.



## INTRODUCCION

Los antibióticos son sustancias químicas producidas por varias especies de microorganismos (bacterias, hongos), los cuales suprimen la proliferación de otros microorganismos y pueden incluso llegar a destruirlos. Sin embargo el advenimiento de métodos sintéticos ha dado como resultado una modificación de esta definición. El término antibiótico se refiere ahora a una sustancia producida por un microorganismo o total o parcialmente por síntesis química que en bajas concentraciones, inhibe el crecimiento de otros microorganismos. Estas sustancias presentan diferencias considerables en sus propiedades químicas, físicas, espectro bacteriano y mecanismo de acción. La mayor parte han sido químicamente identificadas y algunas sintetizadas. Los antibióticos mas útiles son producidos por cuatro géneros de microorganismos: *Bacillus* , *Penicillium*, *Streptomyces* y *Cephalosporium*, que se encuentran natural y abundantemente en el suelo. Es en este sitio donde han sido buscados microbios capaces de producir antibióticos nuevos. ( Zinzer, 1986 ).

La sustancia antibiótica ideal debe tener las siguientes propiedades: Actividad antimicrobiana selectiva y eficaz, con preferencia contra un gran número de microorganismos; acción bactericida (agente que destruye las bacterias) mejor que bacteriostática (inhibe el desarrollo de las bacterias sin

matarlas); y no debe provocar resistencia bacteriana notable; no debe producir efectos colaterales indeseables en el huésped, como reacciones de sensibilidad o alergia, daño al sistema nervioso o irritación de riñones y conducto gastrointestinal; además, el antibiótico debe poder elaborarse en cantidades suficientes y a un costo razonable. ( Delaat, 1983 ).

Los antibióticos actuales pueden clasificarse en varios grupos tomando como base su mecanismo de acción:

1.- Antibióticos inhibidores de la pared celular (cefalosporinas, penicilinas). Impiden la incorporación del péptidoglucano, que consiste en polisacáridos y un polipéptido muy entrelazado, a su posición en la estructura mucopéptida que normalmente constituye la pared celular bacteriana rígida, las células se lisan y pierden su citoplasma y las membranas citoplasmáticas quedan vacías. (Jawetz, 1981 ).

2.- Antibióticos que inhiben las funciones de la membrana celular (polimixinas). Debilitan la membrana celular (no la pared celular) y dejan escapar el contenido celular. El antibiótico se combina con la membrana celular y es causa de desorientación en los constituyentes e impiden que ésta funcione como barrera osmótica. ( Pelczar, 1990 ).

3.- Antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas (cloranfenicol, eritromicinas, tetraciclinas, aminoglucósidos). Inhiben la síntesis de ácido ribonucleico dependiente de ADN, ( transcripción ), y también inhiben la síntesis de proteínas dependiente de ARN ( traducción ). Un antibiótico que inhiba cualquiera de estos dos procesos va a inhibir la síntesis proteica consecuentemente. ( Bertram ,1991 ) .

4.- Antibióticos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos (sulfonamidas). Modifican la estructura o función del ADN provocando profundos efectos en todas las fases del crecimiento y metabolismo celular. (Koneman, 1992 ) .

LA ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DIVERSOS ANTIBIOTICOS SON:

**PENICILINAS** : La estructura básica de las penicilinas es el anillo de tiazolidinco unido a un anillo de beta-lactama, ésta determina muchas propiedades antibacterianas y farmacológicas de el tipo particular de penicilina; dentro de este grupo se encuentran :

Ampicilina : Semejante a la penicilina G, difiere de sus congéneres por su eficacia en un amplio espectro antimicrobiano.

Dicloxacilina : Es menos activa que la penicilina G, excepto contra los estafilococos productores de penicilinasas.

Carbenicilina : Es parecida a la ampicilina pero es mas activa contra *Pseudomonas*, aunque por lo general *Klebsiella* es resistente. (Goodman, 1974)

**CEFALOSPORINAS** : Se asemeja a la penicilina en su estructura y modo de acción. Posee un anillo betalactámico que está fisionado con un anillo de dihidrotiacina. Son resistentes a las betalactamasas. Son activas contra muchos microorganismos sensibles a penicilinas. Las cefalosporinas se han dividido en tres grupos principales o generaciones dependiendo en gran parte de su espectro y actividad microbiológica:

Cefalosporinas de primera generación :

La cefalotina : Es muy activa contra cocos Gram positivos. Entre las bacterias Gram negativas sensibles están *E. coli* y *Klebsiella*.

Cefalosporinas de segunda generación :

Cefuroxima: Es activa contra microorganismos sensibles a los agentes de la primera generación, pero atacan un mayor número de Gram negativos y es

menos activa contra bacterias Gram positivas que las cefalosporinas de primera generación.

Cefalosporinas de tercera generación :

Cefotaxima, Ceftriaxona, Ceftazidima: La característica principal de estos agentes es su cobertura mayor de Gram negativos son activos contra las especies *Enterobacter* y *Citrobacter*. ( Zinzer, 1986) .

**AMINOGLUCOSIDOS:** La estructura anular única de aminociclitol que forma la armazón de cada uno de estos compuestos es un derivado de inositol en el cual varios grupos oxhidrilo han sido remplazados por grupos amino. En este grupo se incluye la amikacina, netilmicina y gentamicina Estos agentes inhiben la síntesis de proteínas en las bacterias. Se emplean principalmente contra las enterobacterias Gram negativas. ( Bertram, 1991 ) .

**MACROLIDOS:** Eritromicina: Es el miembro más importante de los antibióticos macrólidos, grupo caracterizado químicamente por un anillo macrocíclico de lactona de 12 a 22 átomos de carbono al cual están unidos uno o más azúcares aunque primeramente su actividad es bacteriostática, puede ser bactericida para algunos microorganismos. Su eficacia es máxima contra los cocos Gram positivos. ( Goodman, 1974 ) .

CLORANFENICOL: Es el único representante existente de su tipo químico y el primer antibiótico de importancia, completamente sintético. Se distingue de los otros compuestos naturales en que contiene un nitrobenzeno y en que se deriva de el ácido dicloracético. Es bacteriostático para muchas bacterias y es un potente inhibidor de la síntesis de proteínas. ( Goodman, 1974 ).

TETRACICLINAS: Son derivados congéneres de la naftacenocarboxanida policíclica. Las tetraciclinas abarcan una amplia extensión de actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, y contra bacterias que se han hecho resistentes a otros antibióticos. ( Zinzer, 1986 ).

NITROFURANOS: Nitrofurantoína : Es un derivado del furano que posee actividad antimicrobiana habiendo presencia de un grupo nitro que confiere actividad bacteriostática e inhibe la síntesis proteica. El espectro de actividad es amplio e incluye microorganismos Gram positivos y Gram negativos. Son más activos contra *E. coli*, especies de *Klebsiella* y *Enterobacter*. ( Bertram, 1991 ).

**SULFAMIDAS :** Sulfamerazina, sulfadiazina, sulfatiazol : Estos compuestos son polvos cristalinos blancos, la mayor parte insolubles en agua. Son derivados de la para-aminobencenosulfonamida, tienen actividad bacteriostática. Las sulfonamidas tienen un amplio campo de actividad antimicrobiana contra los organismos Gram positivos y Gram negativos (Zinzer, 1986)



## DESCRIPCION DE LAS BACTERIAS AISLADAS EN BAGRE DE CANAL Y CARPA COMUN

*Escherichia coli* : Son bacilos cortos y gruesos, se tiñen uniformemente Gram negativos. Es aerobio, pero facultativamente anaerobio. Producen colonias grandes, húmedas convexas hasta en forma de cúpula. Desarrollan fácilmente en medios simples, la mayoría de las cepas fermentan la lactosa, con producción de ácido y gas. *E. coli* es habitante normal del intestino. Hasta hace muy poco, la importancia de *E. coli* como agente etiológico de enfermedades se subestimaba grandemente. ( Pelczar, 1990 ).

*Klebsiella sp.*: Son bacilos inmóviles, capsulados, aerobios y anaerobios facultativos, Gram negativos. Se desarrollan en medios con extracto de carne, produciendo colonias mas o menos en forma de cúpula, brillantes, de distintos grados de viscosidad. No necesitan condiciones especiales para desarrollarse y la mayoría usan los citratos y la glucosa como fuente de carbono y el amoniaco como fuente de nitrógeno . ( Delaat, 1983 )

*Salmonella sp.*: Son bacilos Gram negativos que no forman esporas, móviles. Aunque son anaerobias facultativas, se desarrollan bien en los medios

de cultivo ordinarios en presencia de oxígeno; es lactosa negativa, fermentan los azúcares produciendo gas . El género *Salmonella* tiene varias especies que son patógenas del hombre y otros animales. Se diferencian de otros microorganismos entéricos y dentro de su género por reacciones bioquímicas, aspecto de las colonias en medios de cultivo diferenciales. ( Cottral, 1978 ).

*Edwardsiella ictaluri*: Bacilo móvil, anaerobio facultativo, Gram negativo, crece bien en cualquier medio selectivo para Gram negativas, forman gas en TSI. Sus colonias son de color gris y lisas. Se admite que es un huésped normal del aparato digestivo de las culebras y también se ha encontrado en las heces y orina de personas con diarrea. ( Caballero, 1986 ).

*Citrobacter sp.*: Es muy similar a *Salmonella* pero mas variable en su comportamiento bioquímico atacan a los azúcares fermentativamente produciendo gas. Son bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, móviles, crecen sobre medios simples. Son parásitos intestinales de los animales incluyendo al hombre. ( Cowan, 1985 ).

*Enterobacter sp.*: Es similar a *Klebsiella*, móvil, algunas cepas son capsuladas, no forman esporas crecen fácilmente en los medios de laboratorio,

bacilos, aerobios y anaerobios facultativos, son Gram negativos, fermentan la glucosa, y son catalasa positivos. Se encuentran en las materias fecales de humanos y animales, suelo y algunas aguas. ( Pelczar, 1990 ).

*Pasteurella piscicida*: Son bacilos cortos, son anaerobio facultativo, inmóviles, Gram negativas. Se cultivan fácilmente en medios ordinarios, dando colonias a las 48 horas de su incubación. Son catalasa positivos. fermentan los carbohidratos. La mayoría de los autores opinan que este tipo de *Pasteurella* son cepas especiales de los peces y no transmitibles a los mamíferos y aves. (Zarzuelo, 1981 ).

*Pseudomonas chlororaphys*: Son gérmenes de forma ovoide, aerobios estrictos, Gram negativos, se desplazan por medio de flagelos, no esporulados, las colonias son redondas y brillantes. Se encuentran muy difundidos en el agua. Son catalasa positivos, no fermentan los carbohidratos. (Caballero, 1986)

*Aeromonas hydrophila*: Son bacilos, móviles por medio de flagelos polares, aerobio y anaerobio facultativo. Crece bien en los medios ordinarios de cultivo, son Gram negativos, catalasa positivos. Se encuentran usualmente en agua dulce, ocasionalmente se obtiene de peces o del hombre. (Zarzuelo, 1981)

*Aeromonas sp.*: Son bacilos cortos rectos o curvos, generalmente móviles por poseer flagelos, son quimiorganotróficos, con metabolismo fermentativo y respiratorio. Se desarrollan bien en los medios de cultivo ordinarios, presentan colonias amarillas a las 24 horas de incubación. (Kinkelin, 1991 ).

*Staphylococcus epidermidis*: Son cocos Gram positivos, las colonias son blancas redondas, lisas. Son microorganismos inmóviles, anaerobios facultativos, no esporulados. Fermentan varios carbohidratos, produciendo ácido sin gas. ( Volk, 1989 ).

*Micrococcus sp*: Son cocos Gram positivos que se observan en pares o en grupos, generalmente inmóviles, no forman esporas, son positivos a la reacción de la catalasa, fermentan a los carbohidratos, crecen bien en medios ordinarios ya sea en condiciones aerobias o anaerobias. Son habitantes comunes del suelo y del agua dulce. Con frecuencia se encuentran en la piel humana y de los animales. ( Carter, 1985 ).

*Diplococcus sp.*: Son cocos Gram positivos, tienen forma de lanza, son inmóviles, no esporulados, aerobios y anaerobios facultativos. Se pueden cultivar en medios de cultivo ordinarios, se agrupan en pares o en cadenas cortas. Fermentan los carbohidratos. Es fácilmente destruido por la acción del calor y de los agentes químicos. ( Delaat, 1983 ).

*Flavobacterium sp.*: Células que varían de cocobacilos a bacilos delgados, cromógenas. Móviles por flagelos peritricos o inmóviles. No forman endosporas, son Gram negativos, catalasa positivos, anaerobios facultativos. Ampliamente difundidos en el suelo y agua dulce. ( Zarzuelo, 1981 ).

*Flexibacter columnaris*: Células en forma de bastones o filamentos, es aerobio, móvil, Gram negativa. Las colonias son secas y tienden a crecer mejor en medios pobres en nutrientes. Un rasgo común de estas bacterias es su movilidad por deslizamiento. (Pelczar, 1990)



## ANTECEDENTES

Las bacterias pueden ser la causa de grandes pérdidas en el cultivo del bagre de canal (*I. punctatus*) y carpa común (*C. carpio*). Estos organismos han sido considerados como los patógenos más importantes de los peces y un alto porcentaje de muertes es más bien relacionada con enfermedades crónicas que con agudas.

El papel de los microorganismos es muy variable, puede ir desde ser un patógeno primario hasta un invasor del huésped y con frecuencia la muerte del pez suele ocurrir por otro proceso patológico. ( De Paola, 1995 )

El agua es un medio ideal para el crecimiento bacteriano, sobre todo cuando contiene un exceso de materia orgánica.

Las bacterias se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza. Se pueden detectar en el aire, agua, plantas y animales. Las bacterias que se encuentran en la piel o en el intestino de los peces pueden ser saprofitas y sería un grave error considerarlas como la causa de una enfermedad sin tener suficiente evidencia. Los órganos internos de los peces sanos con excepción del intestino no contienen bacterias; por lo tanto, si estas se detectan en corazón, hígado u ovarios, hay la posibilidad de que sean la causa de una enfermedad. ( Caballero, 1986 ).

En peces, las enfermedades bacterianas generalmente presentan síntomas característicos que nos permiten reconocerlas antes de realizar un examen bacteriológico completo. Las infecciones provocadas por bacterias pueden ocurrir en órganos internos, músculos o piel y regularmente se manifiestan por manchas rojas de mayor o menor intensidad. ( Kinkelin, 1991 ).

Cuando los peces no son atenuados por condiciones adversas o por invasión de otros parásitos, tienen gran resistencia a las infecciones bacterianas. Esto es debido a la presencia de cantidades elevadas de sustancias bactericidas en la sangre que les permite sobrellevar una infección. Pero si ellos están lesionados o su resistencia ha disminuido por diversas causas, las infecciones bacterianas pueden presentarse en cualquier momento y ser muy difícil su control. ( Setser, 1985 ).

El control de las infecciones es principalmente profiláctico, para proteger a los peces de cualquier tipo de infección, es preciso mantenerlos bajo condiciones óptimas; tales como estanques limpios, suministro de agua de buena calidad y alimento adecuado a sus necesidades nutricionales. Los antibióticos en el control de enfermedades bacterianas en cultivos de peces son utilizados como medida profiláctica, se inyectan a los peces almacenados durante la primavera en los estanques de crecimiento. Los antibióticos

recomendados son el cloranfenicol, estreptomina, auroemina y otros. (Hepher, 1991).

Se han realizado trabajos de investigación donde se han estado probando diferentes antimicrobianos contra algunas bacterias patógenas aisladas en peces de agua dulce :

Waltman y Shotts ( 1986 ), aislaron la bacteria *Edwardsiella ictaluri* de peces de agua dulce en diferentes áreas geográficas de E. U. y las probaron contra 37 antimicrobianos y en sus resultados reportaron que esta bacteria fue sensible a los aminoglucósidos, a las cefalosporinas de segunda y tercera generación, a las penicilinas, nitrofurantoina y trimetoprim - sulfametoxazol, y mostró resistencia a sulfadiazina, ampicilina, tetraciclina y cloranfenicol.

En pruebas de sensibilidad de algunas bacterias Gram negativas aisladas en bagre de canal contra la sulfamerazina Herman y Bullock ( 1986 ), reportaron que cepas de *Aeromonas* y *Pseudomonas* fueron las más sensibles a este antimicrobiano.

En un trabajo en que utilizaron la técnica de dilución en caldo Tsai y Lee ( 1986 ), probaron diferentes antimicrobianos contra cepas de *Aeromonas hydrophila* aislada de peces de agua dulce y sus resultados mostraron que esta bacteria fue altamente sensible a la gentamicina, amikacina, cefuroxima,

cefotaxima y cloranfenicol, y presentaron una muy alta resistencia a las penicilinas.

Fainstein y Weaver ( 1982 ) , aislaron cepas de *Flexibacter columnaris* de peces con necrosis cutanea y la probaron contra 16 antimicrobianos de uso clínico utilizando la técnica de difusión en disco, y reportaron que esta bacteria fué sensible a la cefotaxima, cloranfenicol, aminoglucósidos, tetraciclina y trimetoprim - sulfametoazol, y presentaron resistencia a las penicilinas semisintéticas.

Murase y Niiya ( 1982 ) , probaron varias cepas microorganismos patógenos aislados de bague de canal contra la ceftriaxona, reportaron en sus resultados que *E. coli*, *E. ictaluri*, *A. hydrophila*, *Citrobacter sp.* , fueron altamente sensibles a este antimicrobiano, solo *Pseudomonas chlororaphys* mostro resistencia.

## JUSTIFICACION

Las enfermedades bacterianas constituyen un conjunto considerable en la patología de los peces. Su importancia no viene dada solamente por las pérdidas económicas que ocasionan, sino igualmente, por su impacto sobre poblaciones naturales de peces y por la amenaza sanitaria que representan algunos gérmenes en la salud humana.

Los antibióticos están ampliamente distribuidos en la naturaleza, donde desempeñan un importante papel en la regulación de la población microbiana en el suelo, aguas cloacales y abonos. Por otra parte la presencia de plásmidos causa resistencia a los antibióticos para gérmenes Gram positivos y Gram negativos haciéndose necesario el conocimiento de la respuesta de las bacterias aisladas en enfermedades infecciosas de peces de agua dulce ( bagre de canal y carpa común ) a los antimicrobianos de uso común.

## HIPOTESIS

Si las bacterias patógenas aisladas en bagre de canal (*I. punctatus*) y carpa común (*C. carpio*), son sensibles a los antibióticos de uso común, entonces no se presentará un fenómeno de resistencia en pruebas in vitro.

## OBJETIVOS

### General :

Probar *in vitro* el efecto de antibióticos sobre cultivos de microorganismos patógenos aislados en bagre de canal (*I. punctatus*) y carpa común (*C. carpio*).

### Particulares :

Comparar el grado de efectividad inhibitoria de diferentes antimicrobianos sobre bacterias patógenas aisladas en bagre de canal y carpa común.

Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de tres diferentes tipos de sulfamidas contra bacterias patógenas aisladas en bagre de canal y carpa común.

## MATERIAL Y METODOS

Las pruebas para evaluar la actividad inhibitoria de diferentes antimicrobianos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de la División de Ciencias Biológicas de la U. de G. Los cultivos utilizados son parte del cepario del mismo laboratorio.

Se realizaron pruebas de antibiograma para cada una de las bacterias con multidiscos impregnados con antimicrobianos para bacterias Gram positivas y con antimicrobianos para Gram negativas con 5 repeticiones de cada prueba para cada bacteria.

El método utilizado para determinar la sensibilidad de las bacterias a los multidiscos para Gram positivos y para Gram negativos fue el de Kirby - Bauer. ( Koneman, 1992 ).

El método de Kirby - Bauer ( Koneman, 1992 ), es el mas utilizado para determinar la sensibilidad de las bacterias a los antimicrobianos. Esta prueba se fundamenta en que al colocar un disco impregnado con determinada cantidad de antimicrobiano, sobre un medio sólido inoculado con bacterias, el

antimicrobiano formará un gradiente de concentración, el cual inhibirá o permitirá el crecimiento de la bacteria. Una vez que se coloca el disco de papel filtro en contacto con el medio de cultivo, el antimicrobiano difundirá hacia el interior. La difusión será la misma cuando se coloque un disco individual o un multidisco.

Procedimiento de la prueba :



1.- Preparamos el medio agar de Mueller - Hinton con un pH final a temperatura ambiente entre 7.2 y 7.4, este medio favorece el crecimiento de casi todos los microorganismos para los que son mas importantes las pruebas de sensibilidad. Se agregó 25 ml. del medio en cajas de petri. Las placas se guardaron en el refrigerador ( 2° a 8° C ) en bolsas de plástico, para disminuir la pérdida de agua por evaporación, antes de usarse, las placas se colocaron en una incubadora a 35° C por 30 minutos para eliminar la humedad excesiva.

2.- Se colectaron con un asa 4 o 5 colonias aisladas del mismo tipo morfológico y se inocularon en 5 ml. de medio de cultivo caldo Mueller - Hinton o soya tripticasa, se incubaron a 35° C hasta que aparece una turbidez ligera ( generalmente de 2 a 5 horas ), la turbidez se ajusta con caldo estéril

hasta tener una densidad comparable al estándar No. 0.5 de MacFarland. Esto equivale a una concentración de aproximadamente  $10^8$  U.F.C. ( Unidades Formadoras de Colonias ) / ml.

El estándar 0.5 de MacFarland se preparó añadiendo 0.5 ml. de sulfato de bario a 99.5 ml. de ácido sulfúrico 0.36 N. La comparación de turbidez entre el estándar y el caldo, se efectuó mirándolos contra una cartulina blanca con líneas negras horizontales. ( Delaat, 1983 ) .

3 .- Para inocular las placas se utilizó el método de Barry " Cobertura de agar ", en esta técnica se agregó 1 ml. de la suspensión bacteriana en estudio en 2 ml de agar Mueller - Hinton mientras éste se halla aún líquido. La suspensión bacteriana en agar se vuelca luego uniformemente sobre la superficie del medio formando una fina película. Las ventajas de este método son la distribución mas pareja de los organismos y la apariencia mas nítida y fácil de interpretar las zonas de inhibición. Una vez seco el inóculo, la placa está lista para la colocación de los discos con el antibiótico sobre la superficie del agar. (Koneman, 1992 ) .

4.- Los multidiscos se colocaron en la superficie de agar manualmente, utilizando una pinza estéril. Los discos se presionaron suavemente con la punta de la pinza para asegurar un firme contacto con el agar, cuidando de no erlos una vez colocados en su lugar.

5.- Las placas se incubaron después de la aplicación de los discos a 35° C por espacio de 18 - 24 horas. Después de 18 horas de incubación, aparecieron las zonas de inhibición alrededor de los discos que contienen el antimicrobiano a los cuales el organismo en estudio fué sensible. Los diámetros de estas zonas se midieron cuidadosamente por la parte posterior de la placa. Se empleo una regla marcada en milímetros, la medida fué la del diámetro del halo incluido el disco.

6.- Se utilizaron multidiscos para Gram positivos y multidiscos para Gram negativos ( marca Sanofi Diagnostics Pasteur ), impregnados con antimicrobianos..

Cada multidisco para Gram positivos contiene :

Ampicilina	10 mgrs
Cefalotina	30 mgrs
Cefotaxima	30 mgrs
Ceftazidima	30 mgrs
Cefuroxima	30 mgrs
Dicloxacilina	1 mgrs
Eritromicina	15 mgrs
Gentamicina	10 mgrs
Pefloxacina	5 mgrs
Penicilina	10 U
Tetraciclina	30 mgrs
Trimetoprim - Sulfametoxazol	25 mgrs

Cada multidisco para Gram negativos contiene :

Amikacina	30 mgrs
Ampicilina	10 mgrs
Carbenicilina	100 mgrs
Cefalotina	30 mgrs
Cefotaxima	30 mgrs
Ceftriaxona	30 mgrs
Cloranfenicol	30 mgrs
Gentamicina	10 mgrs
Netilmicina	30 mgrs
Nitrofurantoína	300 mgrs
Pefloxacina	5 mgrs
Trimetoprim - Sulfametoxazol	25 mgrs

7.- Las pruebas anteriores se realizaron con las siguientes cepas, con todos los antimicrobianos :

- 1.- *Aeromonas hydrophila*
- 2.- *Aeromonas sp.*
- 3.- *Citrobacter sp.*
- 4.- *Diplococcus sp.*
- 5.- *Edwardsiella ictaluri*
- 6.- *Enterobacter sp.*
- 7.- *Escherichia coli*
- 8.- *Flavobacterium sp.*
- 9.- *Flexibacter columnaris*
- 10.- *Klebsiella sp.*
- 11.- *Micrococcus sp.*
- 12.- *Pasteurella piscicida.*
- 13.- *Pseudomonas chlororaphys*
- 14.- *Salmonella sp.*
- 15.- *Staphylococcus epidermidis*

Se realizaron pruebas para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de tres diferentes tipos de sulfamidas que fueron sulfadiazina, sulfamerazina y sulfatiazol. El método utilizado para determinar la CMI fué la técnica de dilución en caldo. Se realizaron dos pruebas por esta técnica para cada bacteria con cada una de las tres sulfamidas.

## TECNICA DE DILUCION EN CALDO

Esta técnica consiste en el uso de una serie de tubos que contienen el medio de cultivo adecuado y sembrados con el microorganismo que se prueba, se ponen cantidades crecientes del antimicrobiano que se estudia. Por esta técnica se puede determinar la cantidad mas pequeña del agente quimioterapéutico requerida para inhibir el desarrollo del microorganismo *in vitro*. Esta cantidad se refiere como CMI (concentración mínima inhibitoria). (Pelczar, 1990 ).

### METODO

- 1.- Se preparó para cada serie de las diferentes tipos de sulfas, 10 tubos estériles con 0.5 ml de caldo Mueller - Hinton en cada tubo.
- 2.- Se dejó para cada serie un tubo vacío estéril.
- 3.- Se disolvió la sulfá en hidróxido de Sodio 0.1 molar (solución madre) y para la dilución agua destilada estéril.
- 4.- Se trabajó con una cepa bacteriana de 24 hrs. crecida en caldo Mueller Hinton, y hacer una dilución 1:10,000.

Se enumeran los tubos del 1 al 11 empezando por el tubo vacío, se agrega al tubo No. 1 0.5 mililitros de la dilución de la sulfá de 200 mgrs/ml y al tubo No. 2 adicionar 0.5 ml de la sulfá diluida. A partir de el tubo No. 2 se

agita y se pasa 0.5 ml de la mezcla de éste al tubo No. 3, agitar y se repite la operación hasta el tubo No. 10 del cual se desechan los 0.5 ml sobrantes. A el tubo No. 11 no agregar sulfa y tomarlo como testigo de crecimiento. Después agregar a los 11 tubos 0.5 ml de la suspensión bacteriana a una dilución 1:10,000; las concentraciones que quedaran en cada tubo son las siguientes:

- 1.-100 mgrs/ml
- 2.- 50 mgrs/ml
- 3.- 25 mgrs/ml
- 4.- 12.5 mgrs/ml
- 5.- 6.25 mgrs/ml
- 6.- 3.12 mgrs/ml
- 7.- 1.56 mgrs/ml
- 8.- 0.78 mgrs/ml
- 9- 0.39 mgrs/ml
- 10.- 0.19 mgrs/ml
- 11.- Control de crecimiento

Incubar a 37°C por 24 horas, después observar y comparar el crecimiento bacteriano de los tubos del 1 al 10 con el testigo y determinar su concentración mínima inhibitoria (CMI), con las diferentes sulfas.

# RESULTADOS

Cuadro Nº 1.- Sensibilidad de *E. coli*, *S. epidermidis* y *P. chlororaphys* a los antimicrobianos para Gram negativos.

Antimicrobianos	Inhibición en mm. <i>E. coli</i>		Inhibición en mm. <i>S. epidermidis</i>		Inhibición en mm. <i>P. chlororaphys</i>	
	mm.	S/R	mm.	S/R	mm.	S/R
Nitrofurantoína	18	S	21	S	19	S
Carbenicilina	19	R	27	S	0	R
Pefloxacina	16	R	19	R	22	R
Netilmicina	13	R	26	S	14	R
Gentamicina	12	R	24	S	14	R
Cefotaxima	22	R	22	R	24	S
Cefalotina	16	R	30	S	18	S
Cloranfenicol	19	S	25	S	23	S
Ceftriaxona	23	S	22	S	25	S
Ampicilina	14	S	28	S	0	R
Amikacina	14	R	25	S	14	R
Trimetoprim - Sulfametoxazol	24	S	34	S	12	R

S = sensible      R = resistente

*E. coli* presentó una sensibilidad total al 42 % y una resistencia total al 58 % de los antimicrobianos para Gram negativos. *S. epidermidis* mostró una sensibilidad total al 83 % y una resistencia total de 17 % a los mismos antimicrobianos. *P. chlororaphys* presentó una sensibilidad total al 42 % y una resistencia total al 58 % de los mismos antimicrobianos.

Cuadro N° 2.- Sensibilidad de *A. hydrophila*, *Aeromonas sp.* y *Klebsiella sp.* a los antimicrobianos para Gram negativas.,

Antimicrobianos	Inhibición en mm.		Inhibición en mm.		Inhibición en mm.	
	<i>A. hydrophila</i>		<i>Aeromonas sp.</i>		<i>Klebsiella sp.</i>	
Nitrofurantoína	18	S	18	S	20	S
Carbenicilina	0	R	0	R	22	R
Pefloxacina	27	S	26	S	16	R
Netilmicina	15	S	17	S	12	R
Gentamicina	15	S	14	R	13	R
Cefotaxima	28	S	31	S	12	R
Cefalotina	0	R	0	R	20	S
Cloranfenicol	23	S	28	S	21	S
Ceftriaxona	33	S	24	S	15	R
Ampicilina	0	R	0	R	14	S
Amikacina	17	S	14	R	13	R
Trimetoprim - Sulfametixazol	32	S	16	S	0	R

S = sensible      R = resistente

*A. hydrophila* presentó una sensibilidad total al 75% y una resistencia total al 25 % de los antimicrobianos para Gram negativos. *Aeromonas sp.* mostró una sensibilidad total al 58 % y una resistencia al 42 % de los mismos antimicrobianos. *Klebsiella sp.* presentó sensibilidad total al 33 % y una resistencia total al 67 % de los mismos antimicrobianos.

Cuadro N° 3.- Sensibilidad de *Enterobacter sp.*, *Citrobacter sp.* y *Micrococcus sp.* a los antimicrobianos para Gram negativos.

Antimicrobiano	Inhibición en mm. <i>Enterobacter sp.</i>		Inhibición en mm. <i>Citrobacter sp.</i>		Inhibición en mm. <i>Micrococcus sp.</i>	
	mm.	S/R	mm.	S/R	mm.	S/R
Nitrofurantoina	18	S	17	S	12	R
Carbenicilina	20	R	18	R	18	R
Pefloxacina	20	R	19	R	18	R
Netilmicina	14	R	17	S	22	S
Gentamicina	14	R	17	S	20	S
Cefotaxima	20	R	18	R	0	R
Cefalotina	0	R	0	R	14	R
Cloranfenicol	19	S	20	S	23	S
Ceftriaxona	20	R	18	R	17	R
Ampicilina	0	R	16	S	14	R
Amikacina	16	R	19	S	24	S
Trimetoprim - Sulfametoxazol	24	S	24	S	28	S

S = sensible      R = resistente

*Enterobacter sp.* mostró una sensibilidad total al 25 % y una resistencia total al 75 % de los antimicrobianos para Gram negativos. *Citrobacter sp.* presentó una sensibilidad total al 58 % y una resistencia total al 42 % de los mismos antimicrobianos. *Micrococcus sp.* mostró una sensibilidad total al 42 % y una resistencia al 58 % total de los mismos antimicrobianos.

Cuadro N° 4.- Sensibilidad de *Flavobacterium sp.*, *F. columnaris* y *P. piscicida* a los antimicrobianos para Gram negativos.

Antimicrobiano	Inhibición en mm. <i>Flavobacterium sp.</i>		Inhibición en mm. <i>F. columnaris</i>		Inhibición en mm. <i>P. piscicida</i>	
	mm.	R/S	mm.	R/S	mm.	R/S
Nitrofurantoína	8	R	21	S	18	S
Carbenicilina	27	S	24	S	17	R
Pefloxacina	0	R	24	S	16	R
Netilmicina	22	S	23	S	14	R
Gentamicina	19	S	21	S	13	R
Cefotaxima	26	S	0	R	17	R
Cefalotina	31	S	19	S	0	R
Cloranfenicol	19	S	20	S	16	R
Ceftriaxona	26	S	20	R	19	R
Ampicilina	26	S	21	S	12	R
Amikacina	26	S	23	S	14	R
Trimetoprim - Sulfametoxazol	11	R	23	S	16	S

S = sensible

R = resistente

*Flavobacterium sp.* presentó una sensibilidad total al 75 % y una resistencia total al 25 % de los antimicrobianos para Gram negativos. *F. columnaris* mostró una sensibilidad total al 83 % y una resistencia total al 17 % de los mismos antimicrobianos. *P. piscicida* presentó sensibilidad total al 17 % y una resistencia total al 83 % de los mismos antimicrobianos.

Cuadro N° 5.- Sensibilidad de *E. ictaluri*, *Diplococcus sp.* y *Salmonella sp.* a los antimicrobianos para Gram negativos.

Antimicrobiano	Inhibición en mm. <i>E. ictaluri</i>		Inhibición en mm. <i>Diplococcus sp.</i>		Inhibición en mm. <i>Salmonella sp.</i>	
	mm.	S/R	mm.	S/R	mm.	S/R
Nitrofurantoína	16	R	14	R	11	R
Carbenicilina	18	R	18	R	12	R
Pefloxacina	25	S	21	R	12	R
Netilmicina	19	S	23	S	17	S
Gentamicina	16	S	20	S	14	R
Cefotaxima	21	R	0	R	12	R
Cefalotina	0	R	12	R	0	R
Cloranfenicol	22	S	16	R	18	S
Ceftriaxona	21	S	19	R	13	R
Ampicilina	16	S	19	R	12	R
Amikacina	20	S	21	S	19	S
Trimetoprim - Sulfametoxazol	26	S	0	R	12	R

S = sensible

R = resistente

*E. ictaluri* presentó una sensibilidad total al 67 % y una resistencia total al 33 % de los antimicrobianos para Gram negativos. *Diplococcus sp.* y *Salmonella sp.* mostraron una sensibilidad total al 25 % y una resistencia total al 75 % de los mismos antimicrobianos.

Cuadro N° 6.- Sensibilidad de *E. coli*, *S. epidermidis* y *P. chlororaphys* a los antimicrobianos para Gram positivos.

Antimicrobiano	Inhibición en mm. <i>E. coli</i>		Inhibición en mm. <i>S. epidermidis</i>		Inhibición en mm. <i>P. chlororaphys</i>	
	mm.	R/S	mm.	R/S	mm.	R/S
Penicilina	0	R	25	R	9	R
Dicloxacilina	0	R	16	S	12	R
Pefloxacina	19	R	18	R	23	S
Cefuroxima	18	S	24	S	20	S
Gentamicina	13	R	23	S	13	R
Cefotaxima	22	R	22	R	23	S
Cefalotina	0	R	32	S	19	S
Ceftazidima	18	S	12	R	18	S
Eritromicina	0	R	0	R	10	R
Ampicilina	16	S	30	S	0	R
Tetraciclina	14	R	10	R	16	R
Trimetoprim - Sulfametoxazol	23	S	32	S	14	R

S = sensible      R = resistente

*E. coli*, *S. epidermidis* y *P. chlororaphys* presentaron una sensibilidad total al 33 % de los antimicrobianos para Gram positivos y una resistencia total al 67 % de los mismos antimicrobianos.

Cuadro N° 7.- Sensibilidad de *A. hydrophila*, *Aeromonas sp.* y *Klebsiella sp.* a los antimicrobianos para Gram positivos.

Antimicrobiano	Inhibición en mm. <i>A. hidróphyla</i>		Inhibición en mm. <i>Aeromonas sp.</i>		Inhibición en mm. <i>Klebsiella sp.</i>	
	mm.	R/S	mm.	R/S	mm.	R/S
Penicilina	8	R	10	R	0	R
Dicloxacilina	12	R	12	R	0	R
Pefloxacina	26	S	26	S	15	R
Cefuroxima	24	S	24	S	0	R
Gentamicina	14	R	12	R	12	R
Cefotaxima	29	S	28	S	10	R
Cefalotina	0	R	0	R	20	S
Ceftazidima	20	S	21	S	16	R
Eritromicina	12	R	15	R	10	R
Ampicilina	0	R	0	R	18	S
Tetraciclina	12	R	12	R	20	S
Trimetoprim-Sulfametoxazol	32	S	16	S	0	R

S = sensible      R = resistente

*Aeromonas sp.* y *A. hydrophila* presentaron una sensibilidad total al 33 % y una resistencia total al 67 % de los antimicrobianos para Gram positivos *Klebsiella sp.* mostró una sensibilidad total al 17 % y una resistencia total al 83 % de los mismos antimicrobianos.

Cuadro N° 8.- Sensibilidad de *Enterobacter sp.*, *Citrobacter sp.* y *Micrococcus sp.* a los antimicrobianos para Gram positivos.

Antimicrobiano	Inhibición en mm.		Inhibición en mm.		Inhibición en mm.	
	<i>Enterobacter sp.</i>		<i>Citrobacter sp.</i>		<i>Micrococcus sp.</i>	
Penicilina	0	R	0	R	38	S
Dicloxacilina	0	R	0	R	8	R
Pefloxacina	18	R	20	R	19	R
Cefuroxima	16	R	19	S	16	R
Gentamicina	13	R	19	S	20	S
Cefotaxima	21	R	20	R	10	R
Cefalotina	0	R	14	R	12	R
Ceftazidima	15	R	18	S	14	R
Eritromicina	0	R	0	R	10	R
Ampicilina	0	R	13	R	14	R
Tetraciclina	15	R	14	R	16	R
Trimetoprim - Sulfametoxazol	24	S	25	S	30	S

S = sensible      R = resistente

*Enterobacter sp.* presentó una resistencia total al 100 % de los antimicrobianos para Gram positivos. *Citrobacter sp.* mostró una sensibilidad total al 33 % y una resistencia total al 67 % de los mismos antimicrobianos. *Micrococcus sp.* presentó una sensibilidad total al 17 % y una resistencia total al 83 % de los mismos antimicrobianos.

Cuadro N° 9.- Sensibilidad de *Flavobacterium sp.*, *F. columnaris* y *P. piscicida* a los antimicrobianos para Gram positivos.

Antimicrobiano	Inhibición en mm. <i>Flavobacterium sp.</i>		Inhibición en mm. <i>F. columnaris</i>		Inhibición en mm. <i>P. piscicida</i>	
	mm.	S/R	mm.	S/R	mm.	S/R
Penicilina	30	S	0	R	0	R
Dicloxacilina	0	R	0	R	0	R
Pefloxacina	0	R	22	R	16	R
Cefuroxima	38	S	16	R	17	R
Gentamicina	24	S	21	S	13	R
Cefotaxima	30	S	0	R	17	R
Cefalotina	40	S	21	S	0	R
Ceftazidima	12	R	12	R	14	R
Eritromicina	0	R	10	R	0	R
Ampicilina	30	S	19	S	10	R
Tetraciclina	0	R	20	S	14	R
Trimetoprim - Sulfametoxazol	10	R	24	S	15	R

S = sensible

R = resistente

*Flavobacterium sp.* presentó una sensibilidad total al 33 % y una resistencia total al 67 % de los antimicrobianos para Gram positivos. *F. columnaris* mostró una sensibilidad total al 17 % y una resistencia total al 83 % de los mismos antimicrobianos. *P. piscicida* presentó una resistencia total al 100 % de los mismos antimicrobianos.

Cuadro N° 10.- Sensibilidad de *E. ictaluri*, *Diplococcus sp.* y *Salmonella sp.* a los antimicrobianos para Gram positivos.

Antimicrobiano	Inhibición en mm. <i>E. ictaluri</i>		Inhibición en mm. <i>Diplococcus</i>		Inhibición en mm. <i>Salmonella sp.</i>	
	mm.	R/S	mm.	R/S	mm.	R/S
Penicilina	0	R	17	S	12	R
Dicloxacilina	0	R	17	S	0	R
Pefloxacina	23	S	19	R	12	R
Cefuroxima	17	R	15	R	12	R
Gentamicina	17	S	20	S	16	S
Cefotaxima	19	R	0	R	14	R
Cefalotina	0	R	12	R	0	R
Ceftazidima	15	R	20	S	10	R
Eritromocina	0	R	19	S	11	R
Ampicilina	16	S	20	R	12	R
Tetraciclina	14	R	20	R	17	R
Trimetoprim - Sulfametoxazol	28	S	0	R	12	R

S = sensible      R = resistente

*E. ictaluri* mostró una resistencia total al 100 % de los antimicrobianos para Gram positivos. *Diplococcus sp.* presentó una sensibilidad total al 83 % y una resistencia total al 17 % de los mismos antimicrobianos. *Salmonella sp.* presentó una resistencia total al 100 % de los mismos antimicrobianos.

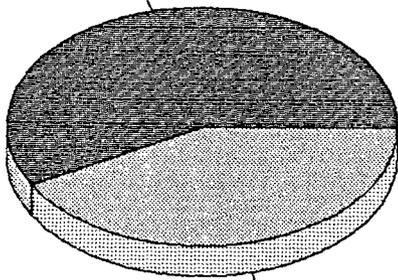
Tabla Nº 1.- Porcentaje de sensibilidad y resistencia de bacterias a los antimicrobianos para Gram negativos.

	% de sensibilidad	% de resistencia
<i>Aeromonas hydrophila</i>	75	25
<i>Aeromonas sp.</i>	58	42
<i>Citrobacter sp.</i>	58	42
<i>Diplococcus sp.</i>	25	75
<i>Edwardsiella ictaluri</i>	67	33
<i>Enterobacter sp.</i>	25	75
<i>Escherichia coli</i>	42	58
<i>Flavobacterium sp.</i>	75	25
<i>Flexibacter columnaris</i>	83	17
<i>Klebsiella sp.</i>	33	67
<i>Micrococcus sp.</i>	42	58
<i>Pasteurella piscicida</i>	17	83
<i>Pseudomonas chlororaphys</i>	42	58
<i>Salmonella sp.</i>	25	75
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	83	17

Tabla Nº 2.- Porcentaje de sensibilidad y resistencia de bacterias a los antimicrobianos para Gram positivos.

	% de sensibilidad	% de resistencia
<i>Aeromonas hydrophila</i>	33	67
<i>Aeromonas sp.</i>	33	67
<i>Citrobacter sp.</i>	33	67
<i>Diplococcus sp.</i>	83	17
<i>Edwardsiella sp.</i>	0	100
<i>Enterobacter sp.</i>	0	100
<i>Escherichia coli</i>	33	67
<i>Flavobacterium sp.</i>	33	67
<i>Flexibacter columnaris</i>	17	83
<i>Klebsiella sp.</i>	17	83
<i>Micrococcus sp.</i>	17	83
<i>Pasteurella piscicida</i>	0	100
<i>Pseudomonas chlororaphys</i>	33	67
<i>Salmonella sp.</i>	0	100
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	33	67

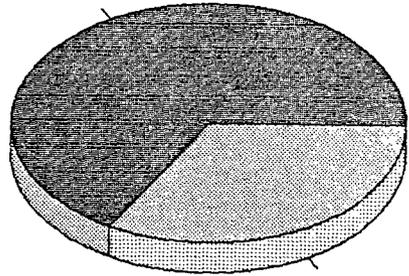
**Resistente**  
**58%**



**Sensible**  
**42%**

Antimicrobianos para  
Gram negativos

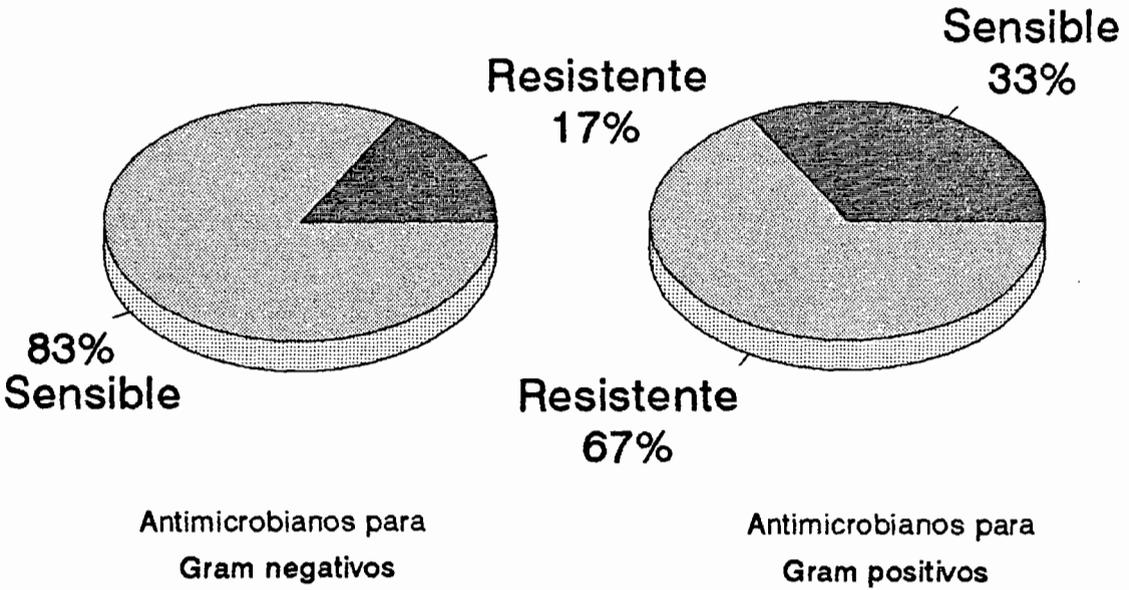
**Resistente**  
**67%**



**Sensible**  
**33%**

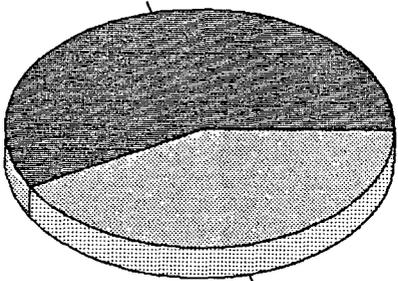
Antimicrobianos para  
Gram positivos

**Fig. 1 Respuesta de E. coli a los antimicrobianos.**



**Fig. 2 Respuesta de S. epidermidis a los antimicrobianos**

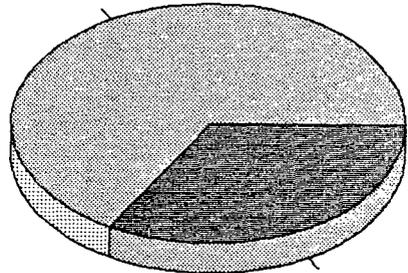
Resistente  
58%



Sensible  
42%

Antimicrobianos para  
Gram negativos

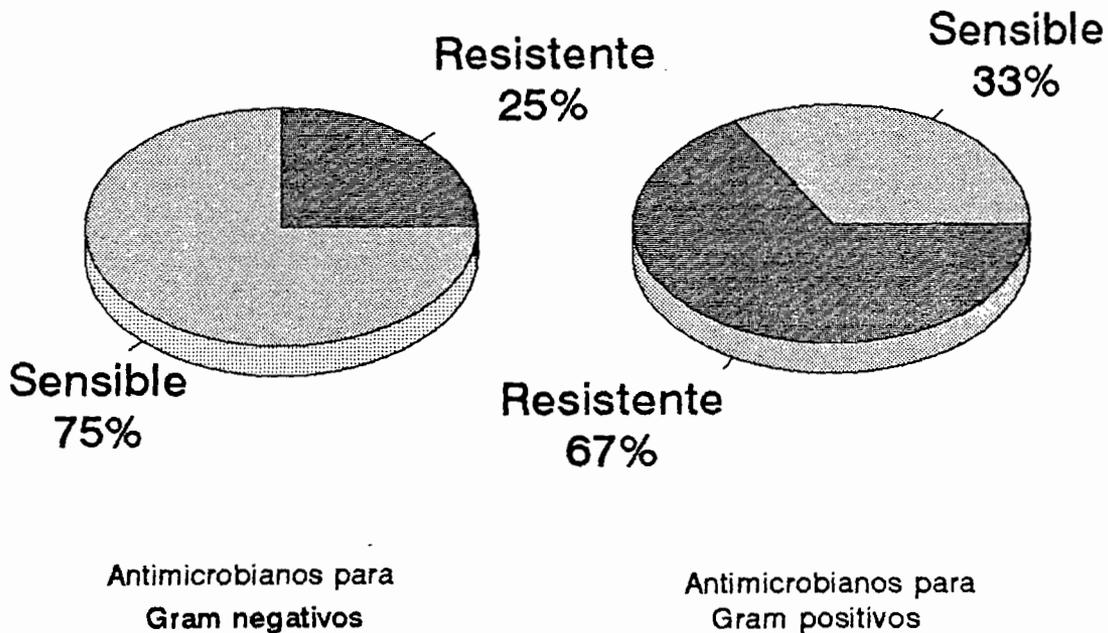
Resistente  
67%



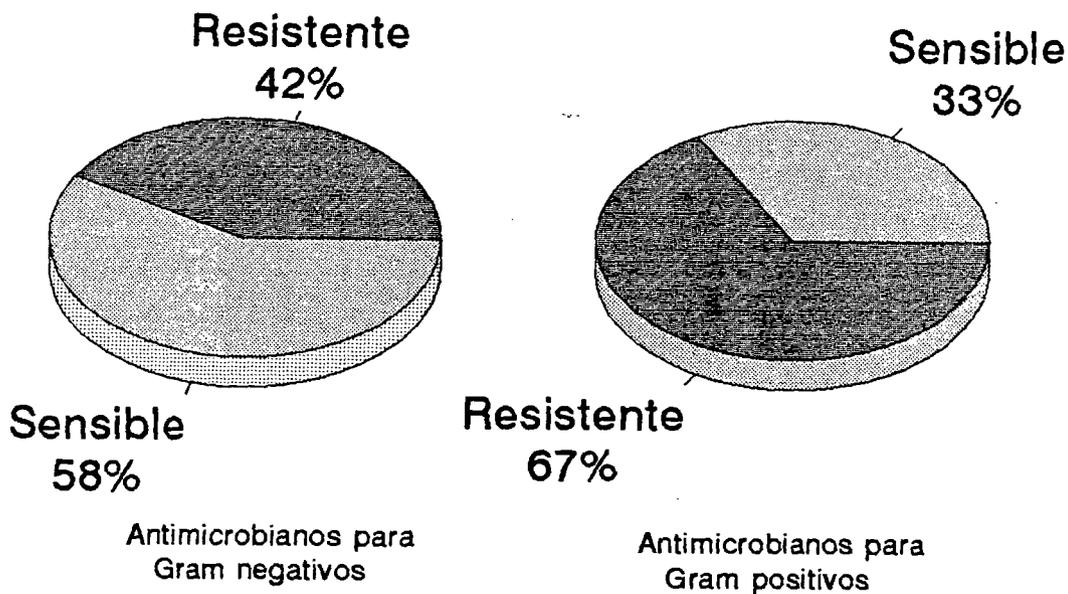
Sensible  
33%

Antimicrobianos para  
Gram positivos

**Fig. 3 Respuesta de P. chlororaphys a los antimicrobianos.**

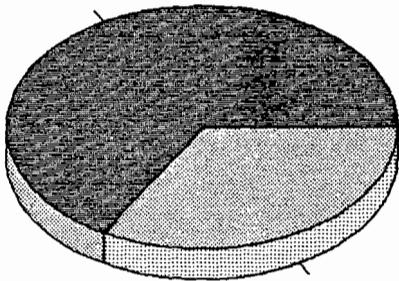


**Fig. 4 Respuesta de A. hydrophila a los antimicrobianos**



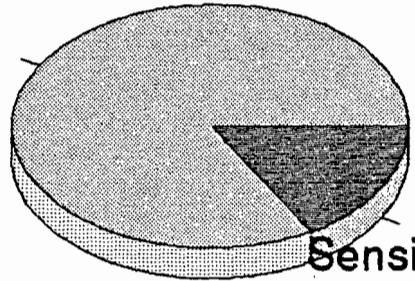
**Fig. 5 Respuesta de Aeromonas sp. a los antimicrobianos.**

Resistente  
67%



Antimicrobianos para  
Gram negativos

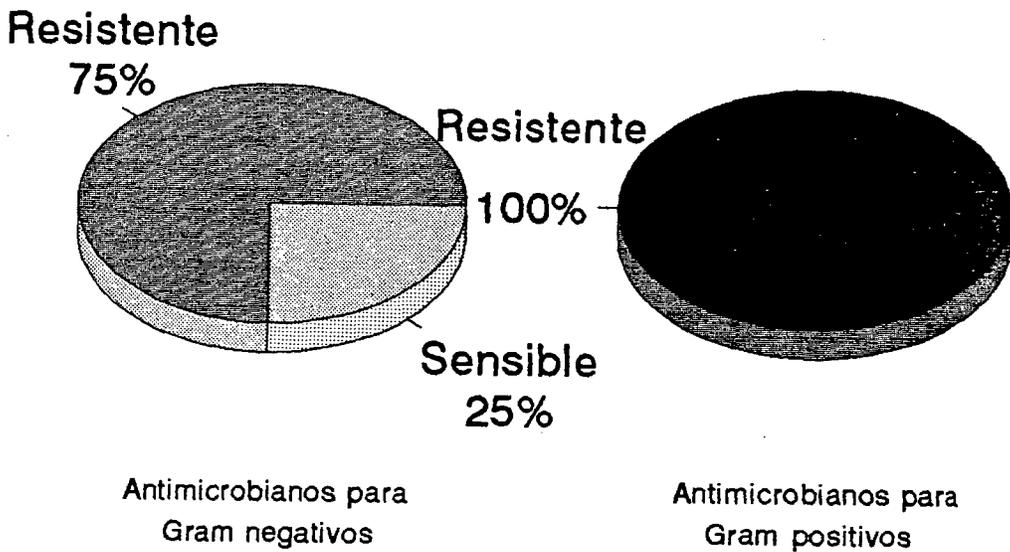
Resistente  
83%



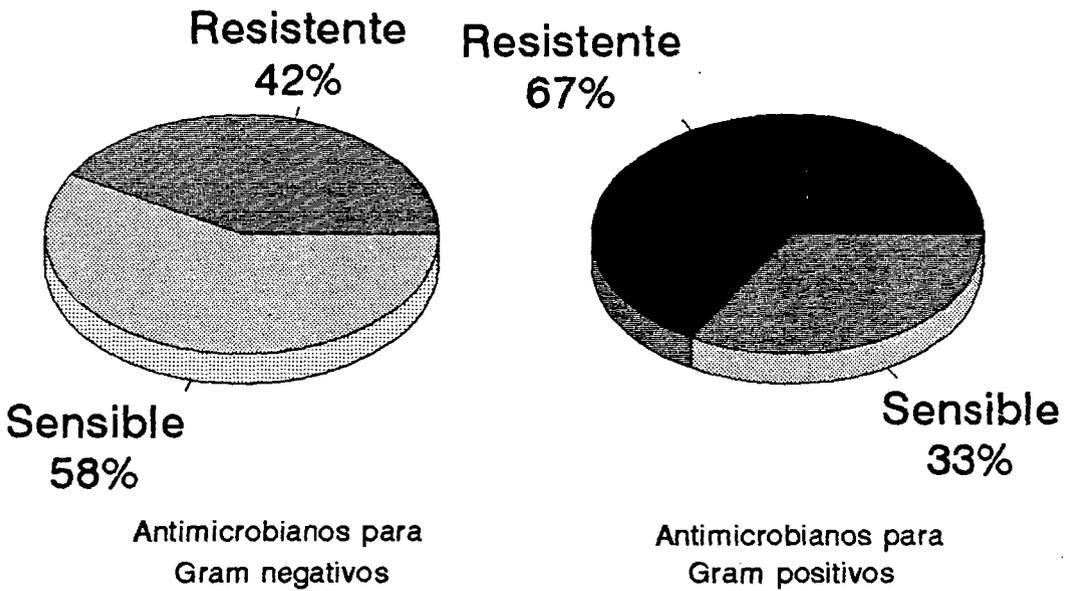
Sensible  
17%

Antimicrobianos para  
Gram positivos

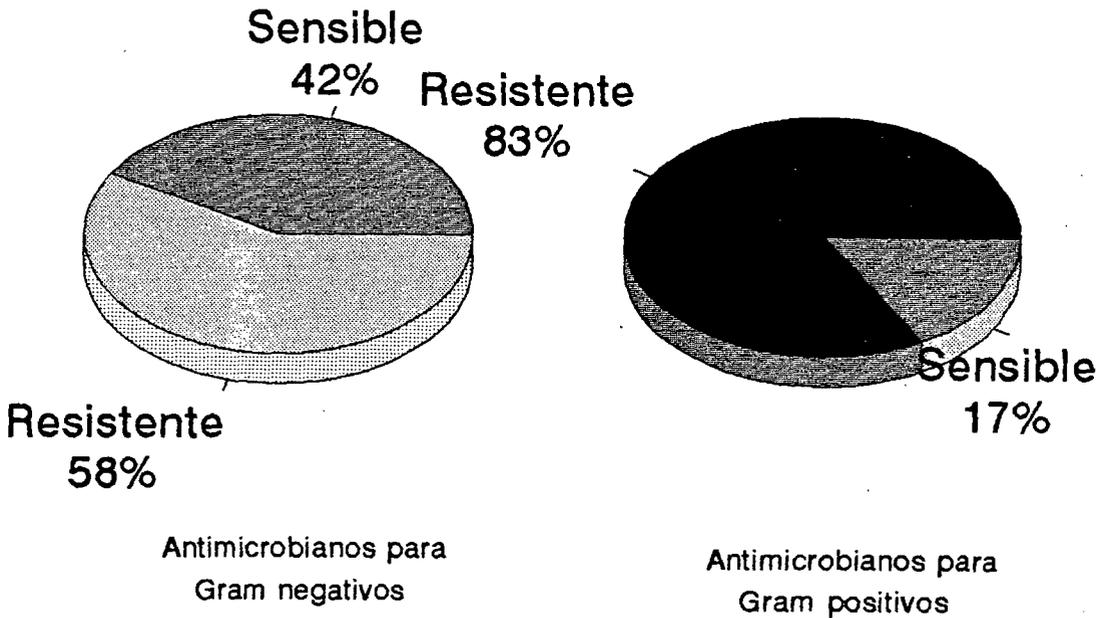
**Fig. 6 Respuesta de Klebsiella sp. a los antimicrobianos**



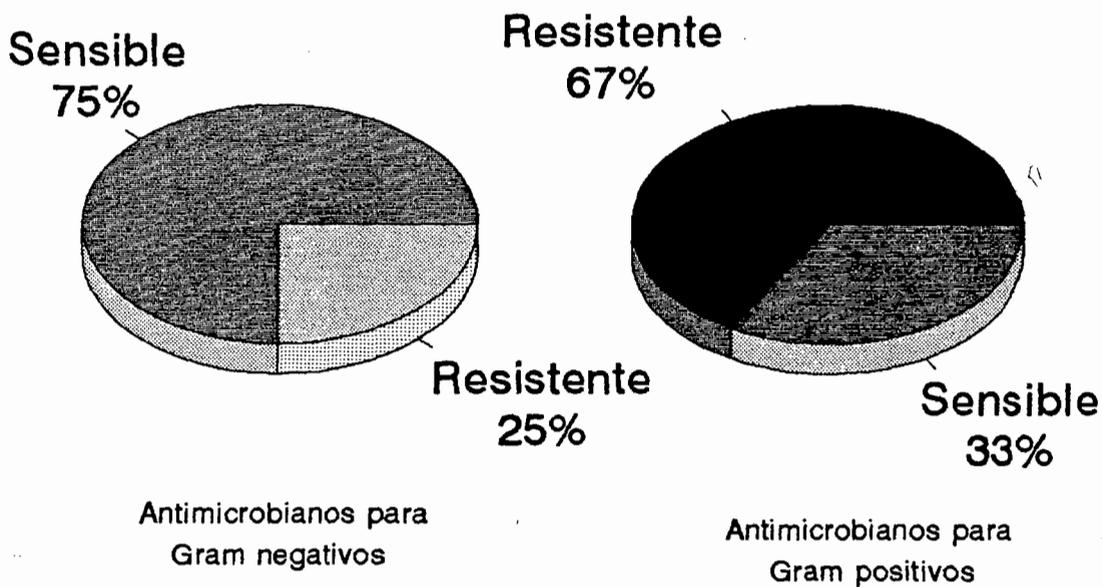
**Fig. 7 Respuesta de Enterobacter sp. a los antimicrobianos.**



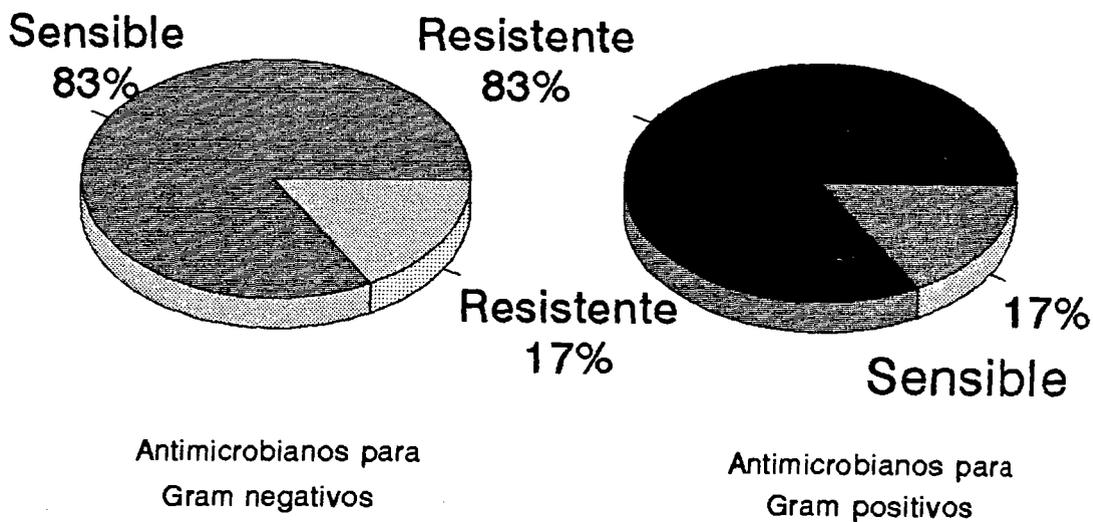
**Fig. 8 Respuesta de Citrobacter sp. a los antimicrobianos.**



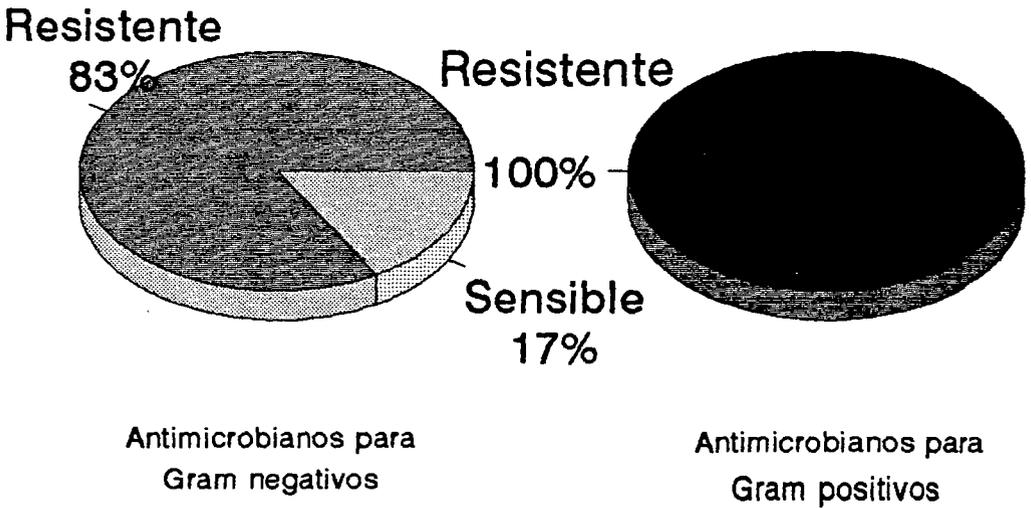
**Fig. 9 Respuesta de Micrococcus sp. a los antimicrobianos.**



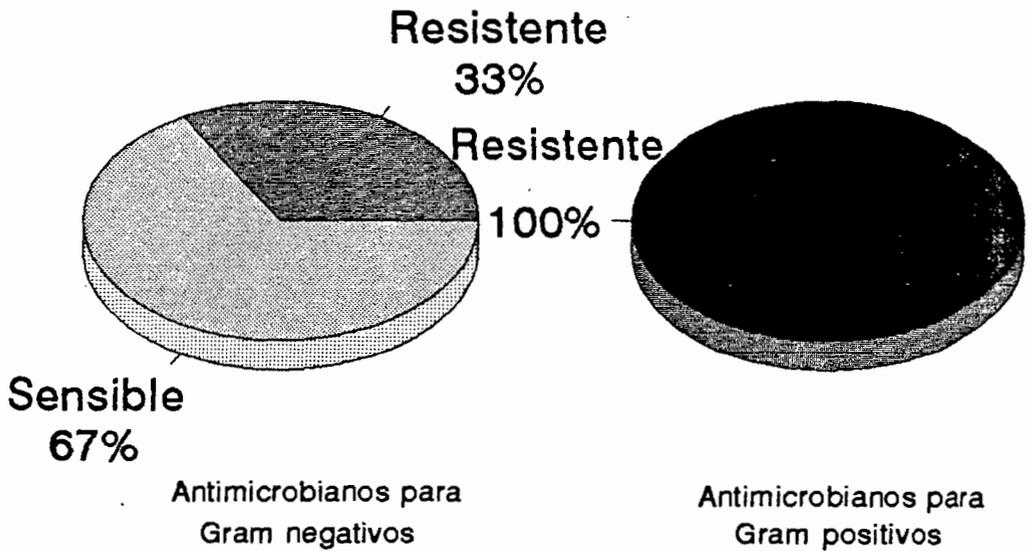
**Fig,10 Respuesta de Flavobacterium sp. a los antimicrobianos.**



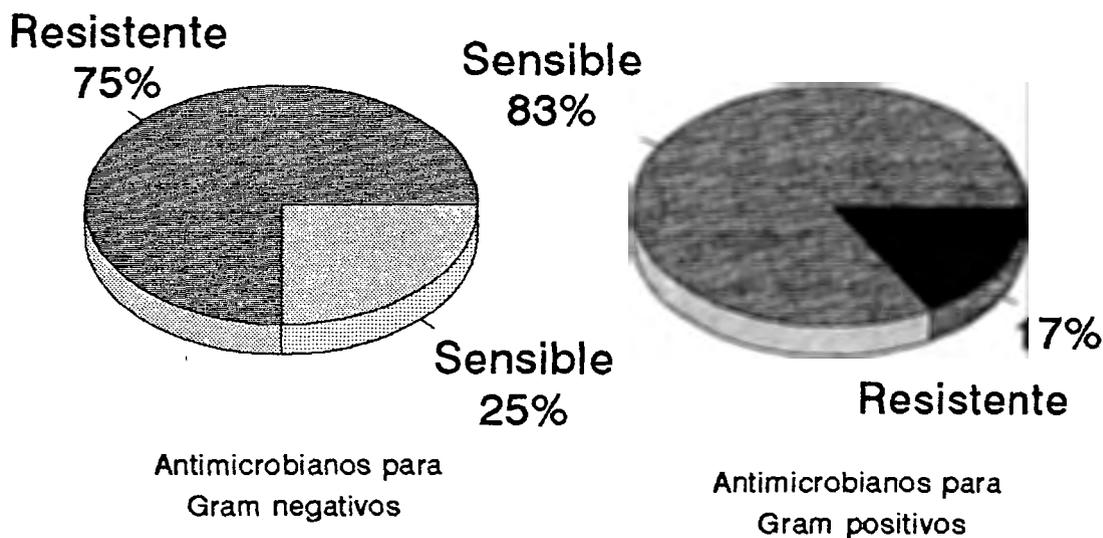
**Fig. 11 Respuesta de F. columnaris a los antimicrobianos.**



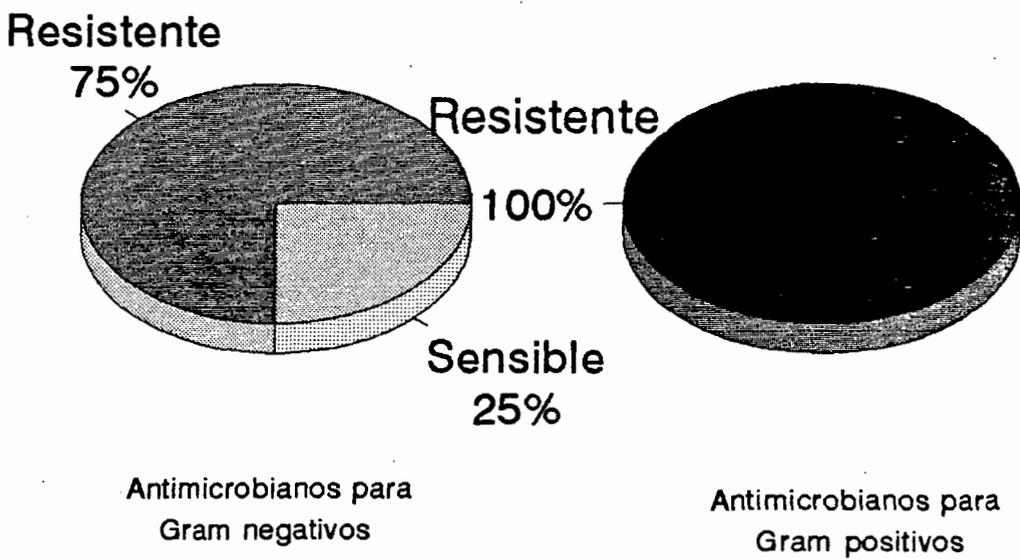
**Fig. 12 Respuesta de P. piscicida a los antimicrobianos.**



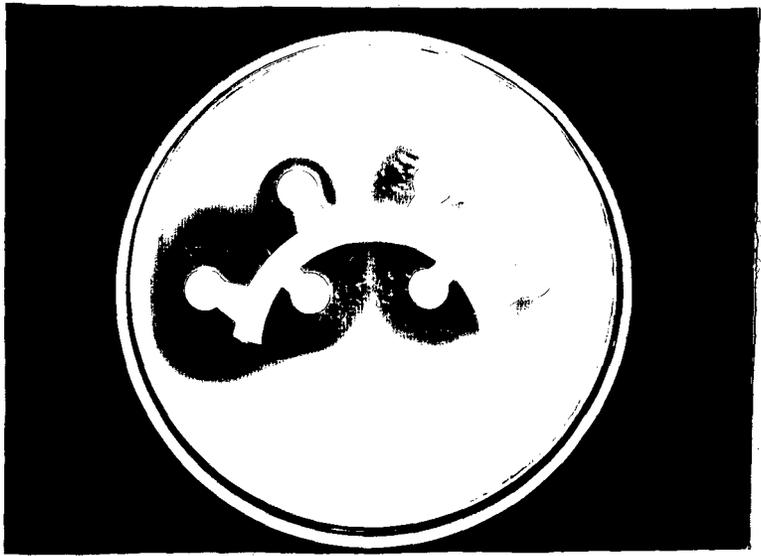
**Fig. 13 Respuesta de E. ictaluri a los antimicrobianos.**



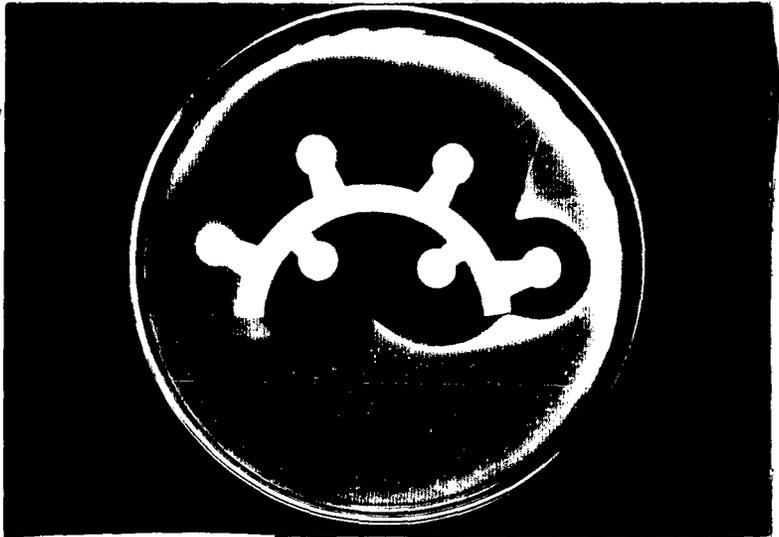
**Fig. 14 Respuesta de Diplococcus sp. a los antimicrobianos.**



**Fig. 15 Respuesta de Salmonella sp. a los antimicrobianos.**



Sensibilidad de *S. epidermidis* a los antimicrobianos para bacterias Gram negativas



Sensibilidad de *F. columnaris* a los antimicrobianos para bacterias Gram negativas

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *A. hydrophila*

Antimicrobianos	CMI mgrs./ ml.
SULFADIAZINA	12,5
SULFAMERAZINA	12,5
SULFATIAZOL	12,5

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *Aeromonas sp.*

Antimicrobianos	CMI µgrs./ ml.
SULFADIAZINA	50
SULFAMERAZINA	25
SULFATIAZOL	25

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *Citrobacter sp.*

Antimicrobianos	CMI µgrs./ ml.
SULFADIAZINA	12,5
SULFAMERAZINA	12,5
SULFATIAZOL	12,5

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *Diplococcus sp.*

Antimicrobianos	CMI µgrs./ ml.
SULFADIAZINA	50
SULFAMERAZINA	25
SULFATIAZOL	25

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *E. ictaluri*

Antimicrobianos	CMI µgrs./ ml.
SULFADIAZINA	50
SULFAMERAZINA	50
SULFATIAZOL	25

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *Enterobacter sp*

Antimicrobianos	MCI $\mu$ grs./ ml.
SULFADIAZINA	> 100
SULFAMERAZINA	> 100
SULFATIAZOL	> 100

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *E. coli*

Antimicrobianos	CMI mgrs./ ml.
SULFADIAZINA	50
SULFAMERAZINA	50
SULFATIAZOL	100

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *Flavobacterium sp.*

Antimicrobianos	CMI $\mu$ grs./ ml.
SULFADIAZINA	25
SULFAMERAZINA	50
SULFATIAZOL	25

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *F. columnaris*

Antimicrobianos	CMI $\mu$ grs./ ml.
SULFADIAZINA	25
SULFAMERAZINA	25
SULFATIAZOL	25

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *Klebsiella sp.*

Antimicrobianos	CMI $\mu$ grs./ ml.
SULFADIAZINA	12,5
SULFAMERAZINA	0,78
SULFATIAZOL	3,12

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *Micrococcus sp.*

Antimicrobianos	CMI $\mu$ grs./ ml.
SULFADIAZINA	25
SULFAMERAZINA	25
SULFATIAZOL	25

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *P. piscicida*

Antimicrobianos	CMI $\mu$ grs./ ml.
SULFADIAZINA	25
SULFAMERAZINA	25
SULFATIAZOL	25

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *P. chlororaphys*

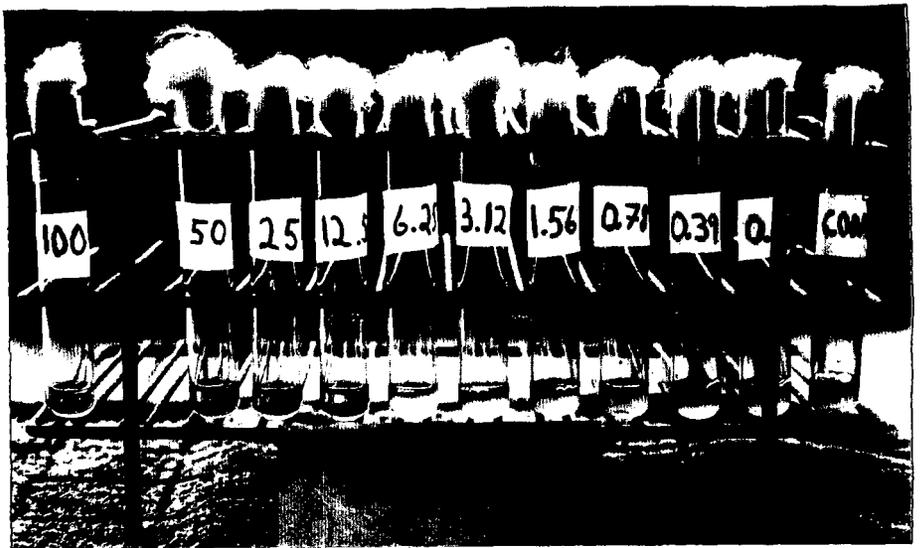
Antimicrobianos	CMI $\mu$ grs./ ml.
SULFADIAZINA	> 100
SULFAMERAZINA	> 100
SULFATIAZOL	> 100

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *Salmonella sp.*

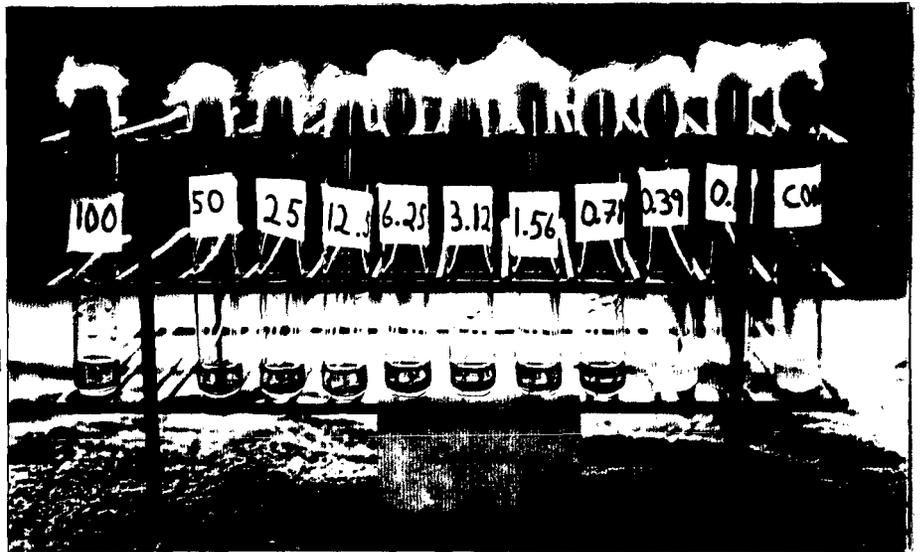
Antimicrobianos	CMI $\mu$ grs./ ml.
SULFADIAZINA	50
SULFAMERAZINA	25
SULFATIAZOL	25

Concentración mínima inhibitoria de diferentes sulfamidas para *S. epidermidis.*

Antimicrobianos	CMI $\mu$ grs./ ml.
SULFADIAZINA	12,5
SULFAMERAZINA	100
SULFATIAZOL	100



Concentración mínima inhibitoria de sulfadiazina para *Aeromonas hydrophila*.



Concentración mínima inhibitoria de sulfamerazina para *Klebsiella sp.*

## DISCUSION

Las bacterias aisladas de los focos infecciosos en peces dieron diferentes niveles de resistencia y sensibilidad a antimicrobianos y a las sulfamidas. Los métodos de estudio *in vitro* fueron los adecuados para obtener los resultados planteados en los objetivos y concuerdan con los estudios encontrados en la literatura .

En nuestros resultados obtuvimos que *E. ictaluri* mostró sensibilidad a nitrofurantoina, trimetoprim - sulfametoxazol, ceftriaxona ( cefalosporina de tercera generación ). En un trabajo realizado por Waltman y Shotts ( 1986 ) reportaron que esta bacteria fué sensible a los mismos antimicrobianos.

Con *Aeromonas hydrophila* reportamos que presentó sensibilidad a gentamicina, amikacina, cefuroxima, cefotaxima y cloranfenicol, estos resultados concuerdan con los reportados por Tsai y Lee ( 1986 ), en un trabajo con la misma bacteria utilizando la técnica de dilución en caldo.

El *Flexibacter columnaris* fué sensible a cefotaxima, cloranfenicol, aminoglucósidos, tetraciclina, y trimetoprim - sulfametoxazol. Reportaron Fainstein y Weaver ( 1982 ), resultados similares con esta misma bacteria a dichos antimicrobianos.

Murase y Niiya ( 1982 ) en una determinación demostraron que *E. coli*, *A. hydrophila*, y *E. ictaluri* fueron sensibles a la ceftriaxona. Resultados similares a los obtenidos en este trabajo

Respecto a las pruebas realizadas con las sulfamidas pudimos observar lo siguiente :

La concentración mínima inhibitoria ( CMI ) , mostrada a las sulfamidas por las diferentes bacterias con las que se realizó este trabajo, encontramos que *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter sp.*, *Klebsiella sp.* y *Staphylococcus epidermidis*, resultaron ser las más sensibles a la sulfadiazina ya que mostraron una CMI de 12.5 mgrs / ml. para este antimicrobiano.

Todas las bacterias se sometieron al mismo método que el punto anterior pero con otro tipo de sulfamida que fué la sulfamerazina, y encontramos que *Klebsiella sp.* fué la que presentó la CMI más pequeña con 0.78 mgrs. / ml.

En una tercera prueba utilizando el sulfatiazol encontramos que la bacteria que presentó la CMI más pequeña fué *Klebsiella sp.* con 3.12 mgrs / ml.

Como se puede observar las bacterias mostraron diferentes niveles de sensibilidad a varios antimicrobianos, esto se debe a que se utilizaron agentes antimicrobianos con diversos mecanismos de acción que actúan inhibiendo las funciones bacterianas a nivel molecular, como en la interferencia con la síntesis de enzimas o a nivel celular, como en la síntesis de la pared celular. Por ejemplo *E. ictaluri* y *Aeromonas hydrophila* mostraron sensibilidad, al trimetoprim - sulfametoxazol que inhibe la síntesis de ácidos nucleicos, a la ceftriaxona y cefotaxima que actúan a nivel de pared celular bacteriana, y al cloranfenicol que es un inhibidor de la síntesis de proteínas, estos antimicrobianos tienen un espectro de acción contra bacterias Gram negativas a los cuales pertenecen *E. ictaluri* y *Aeromonas hydrophila*.

Las bacterias mostraron también resistencia a diferentes antimicrobianos, esto puede ser debido a un factor preexistente en el microorganismo o a algunos factores adquiridos. Por ejemplo la mayoría de las bacterias fueron resistentes a la penicilina, esto pudo ser el resultado de producción de penicilinas por los organismos resistentes que convierten la penicilina en ácido peniciloico inactivo. Muchos organismos que no producen penicilinas son también resistentes a la penicilina lo cual sugiere una incapacidad del agente para penetrar en la célula por alguna modificación en la membrana celular.

En otro ejemplo tenemos la resistencia que presentaron *Enterobacter sp.*, y *Pasteurella piscicida* a los aminoglucósidos que son antimicrobianos que inhiben la síntesis de proteínas, esta resistencia pudo deberse a una alteración de la estructura proteica ribosomal.

## CONCLUSIONES

1.- En los antimicrobianos para bacterias Gram negativas se observó que el 53 % de las bacterias fueron resistentes y el 47 % restante fueron sensibles a la mayoría de estos antimicrobianos, y el 93 % de las mismas bacterias fueron resistentes a la mayoría de los antimicrobianos para bacterias Gram positivas y el 7 % restante fueron sensibles a la mayoría de los mismos antimicrobianos.

2.- El antimicrobiano al que fueron mas sensibles la mayoría de las bacterias ( 67 % ) fué el Trimetoprim - Sulfametoxazol, y los antimicrobianos a los que fueron mas resistentes las bacterias son la Dicloxacilina ( 87 % ) , y la penicilina ( 80 % ) .

3.- La bacteria que presentó mas sensibilidad a las sulfamidas fué *Klebsiella sp.* ya que fué la bacteria que presentó las concentraciones mínimas inhibitorias mas pequeñas con las tres sulfamidas.

4.- La concentración mínima inhibitoria más pequeña fué de 0.78 mgr./ ml. y correspondió a la sulfamerazina con *Klebsiella sp.*

## BIBLIOGRAFIA

Bertram G. 1991. Farmacología básica y clínica. Editorial Manual Moderno. pp: 551 - 553 , 577.

Borrego J. J. Morinigo MA. 1991. Plasmid associated virulence properties of environmental isolates of *Aeromonas hydrophila*. J. Med. Microbiol. 35 ( 5 ) : 264 - 9 .

Caballero y Caballero E. 1986. Parásitos y enfermedades del bagre. Publicaciones Técnicas de la Facultad de Ciencias Biológicas U. A. N. L. pp: 117 - 130 .

Carter G. R. 1985. Bacteriología y Micología Veterinarias. Editorial Manual Moderno. pp: 110 - 126 .

Cottral George. 1986. Manual de métodos estandarizados en Microbiología Veterinaria. Ediciones Científicas La Prensa Mexicana S. A. pp: 308 - 310 .

Cowan y Steel's 1985. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. Editorial CECSA. 2 Edición. pp: 90 - 99 .

Delaat A. N. C. 1983. Microbiología. Editorial Interamericana. 2 Edición.  
pp: 122 - 123 , 331 - 337

De Paola A. 1995. Effect of oxytetracycline - medicated feed on antibiotic resistance of gram negative bacteria in catfish ponds. App. Envir. Microbiol. 61 ( 6 ) : 2335 - 40.

Fainstein V. ; Weaver S. 1982 . In vitro susceptibilities of Aeromonas hydrophila against new antibiotics. Antim. - Ag. - Chem 22 ( 3 ) : 513 - 4.

Goodman L. y Gilman A. 1974. Bases farmacológicas de la terapéutica. Editorial Interamericana . Cuarta edición. pp : 999 - 1027, 1054 - 1058, 1058 - 1060.

Herman R . ; Bullock G. 1986. Antimicrobials and fish: a review of drugs used to treat bacterial diseases of channel catfish and rainbow trout.

Vet - Hum - Toxicol. 28 Suppl 1 : 11 - 7.

Hepher Balfour. 1991. Cultivo de peces comerciales. Editorial Limusa.

pp: 258 - 262 .

Jawetz, Melnick y Adelberg. 1981. Microbiología Médica. Editorial Manual

Moderno. 9 Edición. pp: 110 - 111.

Kinkelin P. 1991. Tratado de enfermedades de los peces. Editorial

Interamericana. pp: 85 - 95 .

Koneman, Allen, Dowell, Sommers. 1992. Diagnóstico Microbiológico.

Editorial Médica Panamericana. pp: 380 - 390.

Murase M. ; Niiya T. . 1982. Antibacterial activities of ceftriaxon against various pathogens isolated from channel catfish. Jpn - Antibiotics. Apr; 35

( 4 ) : 104 - 8.

Pelczar - Reid - Chan. 1990 . Microbiología. Editorial Mc Graw - Hill. 2

Edición. pp: 80, 211 - 218, 403 - 404 .

Setser M. 1985. Pharmacokinetics of gentamicin in channel catfish . Am - J-

Vet- Res. Dec; 46 ( 12 ) 2558 - 61.

Tsai W. ; Lee CH. 1986 . Comparative study of the biotype, hemolysin -

producing capability and antibiogram of the acuatic and the clinical strains of

Aeromonas hydrophila. Vet - Immunol - Immunopathol. May; 19 ( 2 ) :

124 - 36.

Volk - Kadner - Parsons. 1989. Microbiología Médica. Editorial

Interamericana Mc Gram Hill. 3 Edición pp: 362 - 365 .

Waltman - WD ; Shott - EB. 1986. Antimicrobial susceptibility of

Edwardsiella ictaluri. J.- Wildl - Dis. Apr; 22 ( 2 ) : 173 - 7.

Zarzuelo Pastor E. 1981. Principales Enfermedades Infecciosas de los Peces.

Editorial Aedos. pp: 15 - 30 .

Zinzer, Joklik, Willet, Amos. 1986. Microbiología. Editorial Médico Panamericana. pp: 235 - 243, 260 -270 .