



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

FRECUENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS  
ENTEROBACTERIAS PRESENTES EN EL CARACOL GIGANTE  
AFRICANO *Achatina fulica*, EN EL ESTADO SUCRE, VENEZUELA  
(Modalidad: Tesis de Grado)

MARLIN MERCEDES YEGRES MAZA

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2013

# ÍNDICE

AGRADECIMIENTO .....	I
DEDICATORIA .....	II
LISTA DE TABLAS .....	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
RESUMEN .....	V
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	7
Área de estudio .....	7
Recolección de muestras.....	7
Análisis microbiológico.....	7
Aislamiento.....	8
Estudio microscópico.....	9
Caracterización bioquímica .....	9
Fermentación de azúcares.....	9
Utilización del citrato .....	10
Prueba de movilidad .....	10
Descarboxilación de lisina .....	10
Descarboxilación de ornitina .....	10
Hidrólisis de arginina.....	11
Producción de indol .....	11
Utilización de inositol y sorbitol.....	11
Fenilalanina desaminasa .....	12
Hidrólisis de urea.....	12
Utilización del malonato.....	12
Prueba de rojo de metilo .....	12
Reducción de nitratos a nitritos .....	13
Orto-nitrofenilgalactopiranosido (ONPG) .....	13

Análisis estadístico .....	16
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	17
CONCLUSIONES .....	33
RECOMENDACIONES.....	34
BIBLIOGRAFÍA .....	35
<b>HOJAS DE METADATOS.....</b>	<b>41</b>

## **AGRADECIMIENTO**

A:

Mi asesora, Crucita Graü, por su apoyo ofrecido, su tiempo y motivación para la elaboración de esta tesis. Le estaré eternamente agradecida.

Mis amigas Mariángeles e Ynés, porque no solo celebran mis triunfos, sino que me ayudan a conseguirlos. Las adoro.

El laboratorio de Microbiología del INIA-Sucre, por permitirme trabajar en sus instalaciones y facilitarme las herramientas necesarias para realizar esta investigación.

Hilda Marval, Daniel Muñoz, José Alio y Lis García, por su valiosa colaboración.

Todas las personas que creyeron en mí y, muy especialmente, a los que no lo hicieron, pues sus palabras y pensamientos me daban la fortaleza necesaria para seguir adelante día a día.

## DEDICATORIA

A:

Dios Todopoderoso y amado, porque me dió la vida, me ha ayudado a levantarme en mis fracasos, enseñándome a aprender de ellos y me permitió realizar mi sueño más importante.

Mis padres, Iraida y Manuel, quienes a lo largo de mi existencia han velado por mi bienestar y educación, depositando su confianza en cada reto que se me presenta sin dudar de mi capacidad. Es por ellos que soy lo que soy ahora. Los amo.

Mis hermanas, Maryelys y Mayralis, por creer en mí y acompañarme en el camino de la vida. Las adoro.

Franklin, que aunque no estés en estos momentos conmigo, sé que tu alma si lo está, y porque siempre me cuidaste y me apoyaste. Nunca te olvidaré primo.

Mi compañero, Luis Marval, por estar a mi lado queriéndome, por tu paciencia y apoyo, por ser el mejor de los amigos y estar conmigo a lo largo de todo este reto. Te amo.

Mis familiares y amigos, por todo su cariño, apoyo y confianza. Quisiera nombrarlos a todos pero son muchos y eso no quiere decir que no los recuerde.

Mi amiga Mariángeles Hurtado, compañera integra que siempre ha estado cuando más la necesito sin esperar nada a cambio, demostrándome que cada reto se cumple con perseverancia y calma.

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Referencias geográficas de las zonas muestreadas. Municipios Andrés Mata, Bolívar, Andrés Eloy Blanco, Ribero, Sucre y Mejía; del estado Sucre, septiembre – noviembre de 2011. ....	7
Tabla 2. Criterios utilizados por el Instituto de Estándares Clínicos de Laboratorio (2012) para la determinación de la susceptibilidad bacteriana de acuerdo al tamaño del halo de inhibición. ....	16
Tabla 3. Distribución porcentual de enterobacterias aisladas del músculo y la baba de caracoles <i>A. fulica</i> procedentes de seis municipios del estado Sucre, septiembre – noviembre de 2011. ....	18
Tabla 4. Frecuencia de enterobacterias aisladas del músculo de caracoles gigantes africanos <i>A. fulica</i> procedentes de seis municipios del estado Sucre, septiembre – noviembre de 2011. ....	19
Tabla 5. Frecuencia de enterobacterias aisladas de la baba de caracoles gigantes africanos <i>A. fulica</i> procedentes de seis municipios del estado Sucre, septiembre – noviembre de 2011. ....	20
Tabla 6. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en <i>A. fulica</i> frente a aminoglucósidos. ....	21
Tabla 7. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en <i>A. fulica</i> frente al cloranfenicol y al trimetoprim/sulfametoxazol. ....	23
Tabla 8. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en <i>A. fulica</i> frente a tetraciclina y a ciprofloxacina. ....	24
Tabla 9. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en <i>A. fulica</i> frente a la ampicilina y aztreonam. ....	25
Tabla 10. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en <i>A. fulica</i> frente a amoxicilina/ácido clavulánico. ....	26
Tabla 11. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en <i>A. fulica</i> frente a cefalosporinas de segunda generación. ....	27
Tabla 12. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en <i>A. fulica</i> frente a cefalosporinas de tercera generación. ....	28
Tabla 13. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en <i>A. fulica</i> frente a cefepime. ....	29
Tabla 14. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en <i>A. fulica</i> frente a carbapenems. ....	30
Tabla 15. Susceptibilidad de enterobacterias provenientes de la baba y el músculo de <i>A. fulica</i> a diversos antibióticos. ....	32

.

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Porcentaje de cepas aisladas en el músculo y la baba de *A. fulica* ..... 17

## RESUMEN

Se evaluó la frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana de las enterobacterias presentes en caracoles *Achatina fulica* procedentes de las zonas montañosas de los municipios Andrés Mata, Bolívar, Andrés Eloy Blanco, Ribero, Sucre y Mejía, del estado Sucre, durante el periodo septiembre – noviembre 2011. Se recolectaron 20 ejemplares en cada municipio. Se realizó la cuantificación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de las muestras, resultando valores mayores a  $10^5$  UFC/g en el músculo y  $10^5$  UFC/ml en la baba. Se aislaron un total de 674 cepas. La identificación se ejecutó empleando los protocolos convencionales para bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, destacándose *Escherichia coli* con una frecuencia de aislamiento de 24,3%, seguida de *Klebsiella pneumoniae* (21,7%), *Enterobacter aerogenes* (16,4%), *Citrobacter freundii* (12,0%), *Proteus mirabilis* (11,4%); *Enterobacter gergoviae* (4,9%), *Klebsiella ozaenae* (4,5%), *Citrobacter amalonaticus* (3,5%) y *Salmonella enteritidis* (1,3%); la presencia de *S. enteritidis* constituye una alarma en los diferentes municipios donde fue aislada ya que es causante de enfermedades gastrointestinales endémicas que son un problema en la práctica veterinaria y humana, por ocasionar grandes pérdidas, convirtiéndose así en un problema de salud pública y socioeconómico. Los caracoles provenientes del municipio Andrés Mata presentaron mayor porcentaje de enterobacterias (18,2%). La susceptibilidad antimicrobiana se llevó a cabo por el método de difusión en disco. Los antimicrobianos usados en este estudio fueron: aminoglucósidos, cloranfenicol, penicilinas, trimetoprim/sulfametoxazol, tetraciclinas, quinolonas y betalactámicos. Las pruebas de susceptibilidad efectuadas a las especies bacterianas aisladas mostraron altos porcentajes de sensibilidad, sobretodo a los antibióticos carbapenems y cefepime, mientras que la resistencia bacteriana se evidenció, principalmente, a las cefalosporinas de tercera generación. De acuerdo con lo expresado, se sugiere tomar medidas que contribuyan a minimizar el impacto generado por la dispersión del molusco mediante la implementación de programas de vigilancia, manejo y control del mismo.



## INTRODUCCIÓN

Desde Férussac en 1821, *Achatina fulica* ha sido reconocida como una especie bien diferenciada de los gastrópodos pulmonados incluida en la familia Achatinidae. Es originaria de África Oriental (Kenia y Tanzania), de varios países del sur de Sahara y del centro del continente, donde se utiliza como alimento (Matthews, 2005).

El tamaño de la concha de *A. fulica* puede ser de hasta 20 cm de largo y 12 cm de diámetro; usualmente, presenta de 7 a 9 verticilos y aunque su coloración puede ser variable, debido a las condiciones ambientales y a la dieta, por lo general, es de color café claro o marrón rojizo con amarillo claro y axiales uniformes (Carvalho *et al.*, 2003). Habitualmente, es de forma espiral cónica y dibujada hacia afuera en el ápice. La abertura es relativamente corta y tiene una forma lunar. La superficie es lisa, el labio es agudo convexo y uniforme en una semi-elipse regular (Civeyrel y Simberloff, 1996).

El cuerpo del animal tiene dos pares de tentáculos; un par corto inferior que es quimiotáctico y táctil, y otro largo superior con manchas oculares en las puntas. El cuerpo es húmedo, viscoso y parece de goma. Su coloración puede ser café manchado o raramente de color crema pálido. La base es plana, con gruesos tubérculos más evidentes lateralmente en la parte superior de la ampliación de la superficie corporal (Craze y Mauremootoo, 2002).

Son mal llamados hermafroditas, porque muchos caracoles machos al año o dos años de haber nacido se transforman en hembras. Se llama protandria ese fenómeno, porque ese es un paso de macho a hembra. Pero ellos no tienen autofecundación, su apareamiento dura de 3 a 7 horas. A los seis meses de nacidos alcanzan su madurez sexual (Morocoima, 2011). Producen huevos grandes de color blanco amarillento que miden de 4,5 a 5,5 mm de diámetro y sólo eclosionan después de 8 a 21 días a temperaturas superiores a 15°C. Los caracoles pueden poner hasta 100 huevos en su primer año, e incluso 500 en su segundo año (Raut y Barker, 2002). El adulto de *A. fulica* tiene un

promedio de vida de 5 a 6 años y es posible que viva hasta por 9 años. Son capaces de entrar en un estado de estivación y sobrevivir por años en estas condiciones (Tomiyama, 1993).

La alimentación normal de este gastrópodo consiste en material vegetal y animal en descomposición, líquenes, algas y hongos (Rees, 1950). El molusco ha causado estragos en el país, específicamente, en las zonas agrícolas puesto que puede acabar con toda una variedad de cultivos debido a que tiene un apetito voraz y ataca a más de 500 tipos de plantas diferentes. Se tienen informes de un gran número de plantas incluyendo muchas ornamentales, vegetales y leguminosas que también pueden ser atacadas extensivamente. La corteza de las plantas relativamente altas tales como: lechosa, cacao y *citrus*, están sujetas a ser atacadas. Las plantas pertenecientes a la familia Poaceae (caña de azúcar, maíz, arroz) sufren poco o no son dañadas por esta especie. No obstante, se ha encontrado que vegetales del género *Brassica* son los alimentos preferidos del caracol (Thakur y Kumari, 1998). De igual forma, es capaz de causar la muerte en animales cuando dicho molusco es consumido. También, come huevos y caracoles juveniles de su misma especie, compite en el nicho ecológico con moluscos nativos, consume diversas especies de otros caracoles que son propios de estas tierras y puede ser causante de generar un desequilibrio ecológico a las especies autóctonas del país (Guillén, 2009).

Aunque estos caracoles son especies de zonas cálidas algo áridas, pueden adaptarse a cualquier tipo de hábitat, desde las zonas intervenidas hasta los pantanos y áreas urbanas donde exista vegetación (Correoso, 2006). Logran sobrevivir a las condiciones de frío, incluso nevadas, por la hibernación, aunque es posible que no alcancen a establecerse por sí mismos en las regiones templadas. Son, normalmente, de hábitos nocturnos y crepusculares, pero pueden tornarse diurnos durante los días lluviosos y templados (Tomiyama, 1994). Se han establecido en los siguientes países: Mozambique, Somalia, Etiopía, Eritrea, Uganda, Burundi, Rwanda, Congo, Malawi, Zambia, Zimbabwe, Suráfrica y Madagascar (Dharmaraju, 1984). Su distribución es amplia en los estados brasileños orientales, en las islas Marshall y en Samoa Occidental. También está

presente en toda la región Indo-Pacífica, excepto en isla Banaba, islas Cook, isla Loird Howe, Nauru, Niue, isla Norfolk, isla Pitcairn, Tokelau, Australia y Nueva Zelanda (Paiva, 1999). En países como Estados Unidos está catalogado como plaga y se ha prohibido su importación (Díaz y Puyana, 1994).

En Venezuela, *A. fulica* ha presentado una alta tasa de dispersión a lo largo de la región boscosa y montañosa del norte del país en un período de diez años, a una velocidad promedio de 100 km/año desde la localidad donde se registró inicialmente, por lo que dicha propagación se debe a la acción humana involuntaria o intencional (Liboria *et al.*, 2010). Fue capturado en estado de libertad por primera vez en 1997, en el jardín de una vivienda en la ciudad de Caracas, cerca del lugar donde se ofrecían en venta dichos caracoles. Esta especie es nuevamente observada en el 2002, en la ciudad de Guanare, estado Portuguesa. En el 2003, se amplía su área de distribución al sur del estado Delta Amacuro, en la región del Caño Basama, cercana a la reserva forestal de Imataca; en un cultivo de frijoles en Bobare, estado Lara; en las inmediaciones de Caripito, estado Monagas. También, se confirmó su presencia en otras localidades como la isla de Margarita; El Limón y el parque Henry Pittier, estado Aragua; así como en el Jardín Botánico y en el Paraíso, ambos ubicados en la ciudad de Caracas, y en una plantación de cacao al sur de Carúpano, estado Sucre (Martínez y Martínez, 2008); en el 2009, se localiza en Cumaná, específicamente, en el caño de Bebedero, La Llanada, San Juan y Tres Picos (Iguarán, 2009).

El caracol se ha introducido en muchas partes del mundo con fines medicinales, alimentarios, comercio de mascotas y para fines de investigación (Pérez, 1984). Los moluscos o sus huevos pueden movilizarse involuntariamente con los productos agrícolas, la carga, las plantas o la materia del suelo (Robinson, 2002).

El caracol gigante africano es de importancia económica considerable, como resultado de sus depredaciones en jardines, huertos, viveros, invernaderos, macizos de hongos

comestibles, cafetales, plantaciones de cacao y áreas dedicadas a la producción hortícola (Fonseca y Nascimento, 2004). Esta especie también presenta importancia médico-sanitaria ya que actúa como hospedador intermediario de helmintos, hongos y bacterias patógenas (Martínez y Martínez, 2008). Además, el gastrópodo es usado como alimento en muchos países de Europa, donde es troceado y enlatado y se hace pasar, para algunos consumidores, como escargot (Cuellar, 2004).

La entrada de especies exóticas representa un peligro para la biodiversidad porque algunas pueden ser controladas, otras representan una amenaza de muerte para la fauna y la flora; además, pueden provocar problemas para la salud, dificultades económicas y ambientales (Aguirre y Mendoza, 2009). *A. fulica* no sólo se alimenta de una gama bastante extensa de plantas y sobrevive en una selección vasta de hábitats, sino que también representa un riesgo a la salud humana (Ribas *et al.*, 1992). Las enfermedades causadas por el caracol se pueden contraer ingiriendo su carne indebidamente preparada, o manipulando moluscos vivos y transfiriendo su mucosidad a las membranas mucosas de los humanos (Robinson, 2002).

Este molusco puede causar mucho daño al ser humano, ya que es portador de parásitos, bacterias y hongos, que transmiten diversas enfermedades a niños y adultos, y que causan problemas severos en el sistema nervioso, intestinal y hasta la muerte. Estos animales son coprófagos, es decir, se alimentan de las heces de las ratas y por eso se contaminan. Los parásitos y bacterias se alojan en el intestino del caracol y en la baba que éste produce y que emplea para desplazarse. Por eso, se debe evitar la manipulación del caracol con las manos así como utilizar la baba para efectos curativos, pues no tiene esa propiedad (Morocoima, 2011).

El grado de contaminación bacteriana que poseen estos caracoles puede determinarse mediante el conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), término que debe utilizarse para reportar la cuenta de colonias en placa, las cuales pueden surgir de una célula

o de un cúmulo de células. Es la cantidad de células separables sobre la superficie o dentro de un medio de agar semisólido que da lugar al desarrollo de una colonia visible del orden de decenas de millones de células descendientes (Oie y Kamiya, 2002).

Entre el grupo de bacterias perjudiciales al hombre, halladas en *A. fulica*, están las pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae: *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Proteus* y *Enterobacter*. Son bacterias Gram negativas, presentan variada morfología, son anaerobios facultativos, metabólicamente activos, crecen en medios simples y no forman esporas. La mayoría son móviles y unas pocas son capsuladas (Montiel *et al.*, 2005). Villena *et al.* (2010), en un estudio realizado en el caracol terrestre *Helix aspersa*, encontraron enterobacterias pertenecientes a los géneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*, *Proteus* y *Providencia*.

En una investigación bacteriológica realizada en Indonesia, en ejemplares de *A. fulica* se detectaron los géneros: *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Proteus* y *Cardiobacterium*, concluyendo que los géneros y la carga bacteriana en estos caracoles terrestres depende del hábitat particular donde se desarrollen (Utomo *et al.*, 1991).

La proliferación de *A. fulica* en Venezuela ha causado alerta, ya que en muchos estados ha afectado comunidades y plantaciones (Martínez y Martínez, 2008). En las instalaciones de la escuela básica “Emilio Medina”, ubicada al norte de Maracay, estado Aragua, la propagación de los moluscos ocasionó una situación alarmante en maestros, estudiantes y representantes. Los moluscos invadieron los salones de clases y el tanque subterráneo de agua, que es el único sistema que surte al colegio, lo que provocó que varios estudiantes resultaran afectados con gastroenteritis producida por bacterias que porta el caracol (Guillén, 2007). En el mismo estado, docentes y estudiantes de la unidad educativa “La Democracia”, denunciaron la presencia del molusco en elevadas cantidades en sus instalaciones. Algunos infantes resultaron con infecciones respiratorias al manipular el animal en condiciones inadecuadas (Guillén, 2009).

La introducción de *A. fulica* lleva aparejada una serie de consecuencias no previsibles aún para diferentes sectores del país, principalmente la agricultura y la salud humana; por lo que se deben tomar medidas para conocer las características de esta especie, evaluar la introducción y realizar estrategias pertinentes para su erradicación, evitando el éxodo de este notorio y peligroso invertebrado en Suramérica; como ya ha ocurrido desde hace más de un siglo en Asia y otras partes del mundo (Aguirre y Mendoza, 2009).

El riesgo de nuevos casos de personas afectadas por el molusco, ha tomado relevancia por la cría y desarrollo ilegal de colonias del caracol africano gigante con fines comerciales, destinados a la venta como mascotas o para la producción de baba de caracol, sustancia con supuestas propiedades cosméticas o terapéuticas (Icani *et al.*, 2007).

La importancia de este estudio radica en las posibles consecuencias que puede traer sobre la salud pública su inmedible reproducción, ya que el molusco cuenta con una importante carga bacteriana patógena, considerando que parte de esta flora es adquirida del medio donde coloniza. Además, se aportaría información valiosa acerca de los patrones de susceptibilidad antimicrobiana de las especies aisladas en este caracol, ya que en el estado Sucre son pocos o inexistentes los estudios enfocados en ese tema.

Bajo la argumentación expuesta y tomando en consideración los reportes suministrados por las autoridades sanitarias del estado Sucre (Instituto Nacional de Salud Agrícola Integral [INSAI], Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierra [MPPAT], Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas [INIA]), los cuales hacen referencia a que *A. fulicase* encuentra dispersa en toda la región oriental, con este estudio se pretendió evaluar la frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana de las enterobacterias presentes en el caracol gigante africano, a partir de ejemplares provenientes de las zonas montañosas de los municipios Andrés Mata, Bolívar, Andrés Eloy Blanco, Ribero, Sucre y Mejía, del estado Sucre.

## METODOLOGÍA

### Área de estudio

Se recolectaron 20 caracoles en zonas montañosas de comunidades y plantaciones de distintos municipios del estado Sucre, como lo muestra la tabla 1 que describe la ubicación geográfica de dichos municipios, sus parroquias, sectores seleccionados para la recolección de caracoles y sus respectivas coordenadas.

Tabla 1. Referencias geográficas de las zonas muestreadas. Municipios Andrés Mata, Bolívar, Andrés Eloy Blanco, Ribero, Sucre y Mejía; del estado Sucre, septiembre – noviembre de 2011.

Municipio	Parroquia	Sector	Coordenadas
Andrés Mata	San José de Aerocuar	Las Maravillas	N: 10° 53' 39" O: 63° 39' 49"
Bolívar	Marigüitar	Marigüitar	N: 10° 12' 26" O: 63° 43' 20"
Andrés Eloy Blanco	Rómulo Gallegos	Río Cristalino	N: 10° 12' 19" O: 63° 10' 50"
Ribero	Cariaco	Aguas Calientes	N: 10° 29' 56" O: 63° 57' 65"
Sucre	Santa Inés	Cantarrana	N: 10° 45' 39" O: 64° 15' 71"
Mejía	San Antonio del Golfo	San José Sur	N: 10° 44' 12" O: 63° 78' 84"

### Recolección de muestras

En total se colectaron 120 caracoles vivos, usando guantes de látex y tapabocas. Se depositaron en una jaula para su traslado al Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Sucre), para su análisis bacteriológico.

### Análisis microbiológico

Una vez en el laboratorio, los caracoles fueron colocados sobre una superficie de vidrio estéril para tomar la baba con un aplicador que se inoculó en un tubo de ensayo con agua

peptonada (AP) para incubarlo por 24 horas a 37°C.

Luego de limpiar y romper la concha de los caracoles utilizando un cuchillo estéril, se extrajeron 25 g del músculo que fueron introducidos en un frasco estéril con 225 ml de AP y se incubaron a 37°C por 24 horas.

Para el recuento de aerobios mesófilos se realizaron diluciones seriadas; para ello, se añadió 1 ml de la preparación anterior en un tubo de ensayo con 9 ml de AP. Este procedimiento se siguió hasta alcanzar una dilución de  $10^{-4}$ . Cada dilución se sembró en profundidad en placas de Petri, depositando 1 ml de cada una en el fondo de las placas y se les añadió 15 ml del agar plate count fundido, se mezclaron suavemente hasta distribuir uniformemente. Las placas se incubaron a 37°C por 24 horas en ambiente de aerobiosis. De esta manera, se procesaron ambas muestras (baba y músculo). Posteriormente, se determinaron las Unidades Formadoras de Colonias por gramo (UFC/g) en el músculo y UFC/ml en la baba, en las placas que contenían entre 30 y 300 colonias. Las UFC se calcularon multiplicando el número total de colonias por la dilución respectiva (García, 1987).

$$\text{UFC} = \text{número total de colonias} \times \text{dilución.}$$

### **Aislamiento**

El estudio de las enterobacterias presentes en *A. fulica* se llevó a cabo siguiendo los lineamientos establecidos por Koneman *et al.* (2008) para el aislamiento e identificación de enterobacterias.

A partir de la solución de AP se sembró en los diferentes medios de cultivos: agar nutritivo (AN), agar Mac Conkey (AMC) y agar Salmonella-Shigella (ASS), para ser incubados por 24 horas a 37°C en aerobiosis (Mac Faddin, 2004). A las colonias obtenidas se les evaluó morfología, características de crecimiento, color, forma, borde y elevación; además, se tomaron en cuenta los cambios producidos en AMC que reflejaron



la fermentación o no de la lactosa. Se separaron las colonias con características distintas, se inocularon en caldo infusión cerebro-corazón (BHI) y se incubaron a 37°C por 24 horas. Consecutivamente, se sembraron por diseminación en AN (Koneman *et al.*, 2008).

### **Estudio microscópico**

Para este estudio se realizaron frotis de las colonias seleccionadas y se les aplicó la coloración de Gram que permitió distinguir las bacterias que muestran morfologías similares y agruparlas en Gram positivas y Gram negativas (Koneman *et al.*, 2008). Las diferencias entre las reacciones de coloración de las bacterias se basa en la composición química de su pared celular; de esta manera muchas bacterias conservaron la coloración violeta-yodo y se tiñeron de púrpura (Gram positivas) y otras se colorearon de rojo por la safranina (Gram negativas). Fueron seleccionadas las colonias formadas por bacilos de reacción negativa frente a la tinción de Gram, para su posterior identificación (Forbes *et al.*, 2004). El procedimiento de la coloración fué realizado según la técnica de Hucker modificada del año 1927 (citado por Koneman *et al.*, 2008).

### **Caracterización bioquímica**

Las cepas se caracterizaron bioquímicamente mediante los protocolos de identificación convencionales para enterobacterias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa, propuesto por Koneman *et al.* (2008) y Mac Faddin (2004). Se realizaron las siguientes pruebas:

### **Fermentación de azúcares**

Esta prueba determina la capacidad de un microorganismo para utilizar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de desarrollo basal, con producción de gas o sin ella, junto con la determinación de la posible producción de sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) a partir de las sales de hierro presentes en el medio. La fermentación de la glucosa

y/o lactosa produce una disminución en el pH del medio, lo que provoca un cambio en el color del indicador rojo fenol. La producción de H<sub>2</sub>S se evidencia con un ennegrecimiento del medio. Para su realización, se procedió a inocular los tubos de Kligler con el método de punción y estrías y se incubaron a 37°C por 24 horas en aerobiosis.

### **Utilización del citrato**

En esta prueba se evidencia la capacidad de un microorganismo para utilizar el citrato como única fuente de carbono y las sales de amonio como fuente de nitrógeno, siendo indicativo de una reacción positiva la observación de un color azul en el medio o el crecimiento bacteriano en la superficie del mismo. Para su ejecución las cepas bacterianas se inocularon en tubos de citrato con el método de estrías y se incubaron a 37°C por 24 horas en aerobiosis.

### **Prueba de movilidad**

La aplicación de esta prueba evidencia si un microorganismo es móvil o inmóvil. Las cepas móviles provocan turbidez del medio, que se extiende más allá de la línea de siembra, mientras que el crecimiento de las cepas inmóviles se observa solamente en la línea de siembra. Para la ejecución de esta prueba se inoculó el medio movilidad, producción de indol y sulfuro de hidrógeno (SIM) y se aplicó el método de punción sin tocar el fondo del tubo. Inmediatamente, se incubaron a 37°C por 24 horas en aerobiosis.

### **Descarboxilación de lisina**

Determina la capacidad enzimática de las bacterias para descarboxilar la lisina y originar una amina con la resultante alcalinidad que se demuestra al observar un color púrpura en el medio. Esta prueba se realizó mediante la inoculación de las cepas en los tubos con medio lisina - hierro (LIA); se incubaron a 37°C por 24 horas en aerobiosis.

### **Descarboxilación de ornitina**

Determina la capacidad enzimática de un microorganismo para descarboxilar ornitina y

formar una amina con la resultante alcalinidad que se evidencia al observar un color púrpura en el medio. Para realizar esta prueba se inoculó el medio movilidad, indol y ornitina (MIO) aplicando la técnica de punción. Inmediatamente, se incubaron a 37°C por 24 horas en ambiente de aerobiosis.

### **Hidrólisis de arginina**

A través de este ensayo se determina la capacidad de los microorganismos para hidrolizar el aminoácido L-arginina por medio del sistema deshidrolasa. Se considera positiva al observarse un color púrpura en el medio. Esta prueba fue efectuada mediante la inoculación del caldo de Moeller el cual contenía el aminoácido L-arginina. Estos tubos se incubaron por 24 horas a 37°C en aerobiosis.

### **Producción de indol**

El indol es uno de los productos en degradación del metabolismo del aminoácido triptófano. Las bacterias que poseen la enzima triptofanasa degradan el triptófano y, de este modo se produce indol, ácido pirúvico y amonio. El indol se detectó en un medio triptófano de prueba, mediante la observación del desarrollo de color rojo después de agregar una solución que contiene p-dimetilaminobenzaldehído como el reactivo de Ehrlich o de Kovac's. Los tubos con medio SIM fueron inoculados por punción e incubados por 24 horas a 37°C en aerobiosis. Transcurrido el tiempo de incubación se les agregó el reactivo a los tubos hasta que se observó la reacción.

### **Utilización de inositol y sorbitol**

Ambas pruebas determinan si el microorganismo posee la capacidad para utilizar el sorbitol y/o el inositol, formando ácidos como productos finales que se evidencia en el medio por el cambio del color rojo a amarillo del indicador rojo fenol. Para ejecutar esta prueba se inocularon con las cepas bacterianas en estudio los tubos con los polialcoholes y se incubaron a 37°C por 24 horas en aerobiosis.

### **Fenilalanina desaminasa**

Esta prueba determina la capacidad de un organismo para desaminar la fenilalanina en ácido fenilpirúvico por su actividad enzimática de fenilalanina desaminasa, con la acidez resultante. Se cultivó el microorganismo en agar fenilalanina sembrando la superficie del medio con abundante inóculo e incubando durante 12-16 horas. Seguidamente, se añadió 0,2 ml de una solución de cloruro férrico al 10% que inundó todo el crecimiento. La presencia de ácido fenilpirúvico se manifiesta por la aparición de un color característico verde oscuro o verde-azulado.

### **Hidrólisis de urea**

Esta prueba determina la capacidad bacteriana de hidrolizar la urea en dos moléculas de amoníaco por la acción de la ureasa, con la resultante alcalinidad, observándose un cambio de color del indicador hasta rosado. Para llevar a cabo esta prueba se inocularon con la cepa los tubos con medio de Christensen, se incubaron en aerobiosis a 37°C por 24 horas.

### **Utilización del malonato**

Detecta la capacidad de un microorganismo para utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono, evidenciándose en el medio una turbidez y un cambio de color (verde a azul) por la producción de metabolitos alcalinos. Para efectuar este ensayo se inocularon con las cepas bacterianas a identificar los tubos con malonato y se incubaron a 37°C por 24 horas en aerobiosis.

### **Prueba de rojo de metilo**

La glucosa puede ser metabolizada por los microorganismos, a través de distintas vías metabólicas: la ácido mixta (se originan productos finales ácidos) y la vía butilenglicólica (se originan productos finales neutros). Este ensayo permite determinar

la diferencia en el metabolismo bacteriano que podría ser reconocida por la adición de un indicador como rojo de metilo, para revelar la presencia de productos ácidos. Para ello, se inocularon con la cepa bacteriana los tubos con el medio Voges Proskauer, se incubaron a 37°C por 24 horas en aerobiosis y, al cabo de ese tiempo se les agregó el rojo de metilo, considerándose la prueba positiva al observar un anillo de color rojo en el medio y por el contrario la prueba fue negativa si presentaba un viraje del indicador de rojo a amarillo.

### **Reducción de nitratos a nitritos**

Mediante esta prueba se determina la capacidad de un organismo de reducir el nitrato en nitrito. Para ello, el medio manitol movilidad contenía 1 g/l de nitrato de potasio, se incubó a 37°C por 24 horas en ambiente de aerobiosis. Para revelar la presencia de nitritos, después de su incubación, se añaden los reactivos de Griess-Ilosvay en cantidades iguales (1 ml aproximadamente). Un cambio de color (rojo) dentro de los 30 segundos indica un resultado positivo.

### **Orto-nitrofenilgalactopiranosido (ONPG)**

Esta prueba permite diferenciar los microorganismos fermentadores lentos de lactosa, de los no fermentadores. La lactosa puede ser fermentada de manera rápida (18-24 horas), en forma lenta, o puede no ser fermentada. Los microorganismos que la fermentan rápidamente poseen dos enzimas: b-galactósido permeasa, la cual está localizada en la membrana celular y está involucrada en el transporte de la lactosa, y la b-D-galactosidasa, que es intracelular y está involucrada en la hidrólisis de la lactosa a galactosa y glucosa. Los microorganismos fermentadores lentos de lactosa, son deficientes en b-galactósido permeasa pero no en b-D-galactosidasa, y los microorganismos no fermentadores no poseen ninguna de las dos enzimas. Los discos contienen ONPG, el cual tiene la característica de entrar rápidamente al interior de la bacteria, sin la necesidad de utilizar la b-galactósido permeasa, y allí es metabolizado por la b-D-galactosidasa, liberándose o-nitro-fenol, compuesto de color amarillo. Se

realizóa partir de un cultivo puro, haciendo una suspensión densa en 0,2 ml de solución fisiológica estéril, y se agregó un disco de ONPG,durante 30 minutos a 35-37°C, en aerobiosis.En las reacciones positivas se observó un color amarillo en la suspensión.

### **Susceptibilidad antimicrobiana**

La susceptibilidad antimicrobiana fué realizada mediante el método de difusión en disco (Bauer *et al.*, 1966), usando como orientación los lineamientos propuestos para enterobacterias por el Instituto de Estándares Clínicos de Laboratorio (CLSI, 2012)para la lectura de los antibiogramas ya que estos son criterios para bacterias aisladas de muestras de procedencia clínica y no se manejan para bacterias aisladas de muestras ambientales. A partir de un cultivo puro de 18 a 24 horas de crecimiento se tomaron de 3 a 5 colonias con asa bacteriológica, y se inocularon en solución salina fisiológica estéril,ajustando la turbidez al patrón 0,5 en la escala de MacFarland correspondiente a  $1,5 \times 10^8$  microorganismos viables/ml. Seguidamente, se impregnó un hisopo estéril en la suspensión rotándolo varias veces y se ejerció presión sobre las paredes interiores del tubo con el fin de eliminar el exceso de líquido.

La suspensión bacteriana se diseminó uniformemente sobre la superficie del agar Müeller Hinton con trazados próximos y en tres direcciones diferentes; se dejó secar durante un tiempo aproximado de 3 a 5 minutos para luego proceder a colocar los discos de los antibióticos elegidos por su amplio espectro de acción y su conocida efectividad frente a las bacterias en estudio.

Los antimicrobianos seleccionados para probar la susceptibilidad de las enterobacterias en estudio fueron: ampicilina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), amikacina(30 µg), gentamicina (10 µg), cloranfenicol (30 µg), trimetoprim/sulfametoxazol (1,3/23,8 µg), cefuroxima (30 µg), cefoxitina (30 µg), ceftazidima (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftriaxona (30 µg), amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 µg),cefepime (30 µg), aztreonam (30 µg), imipenem (10 µg), meropenem (30 µg), tetraciclina (30 µg) y

ampicilina/sulbactam (10/10 µg). Los antimicrobianos seleccionados para probar la susceptibilidad de *S. enteritidis* fueron: trimetoprim/sulfametoxazol (1,3/23,8 µg), ampicilina (10 µg), cefotaxima (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), ceftazidima (30 µg), ceftriaxona (30 µg), cloranfenicol (30 µg). Los antibiogramas se incubaron a 37°C por 24 horas en una atmósfera de aerobiosis.

El control de calidad aplicado para evaluar la caracterización bioquímica y la susceptibilidad antimicrobiana, se realizó utilizando la cepa *Escherichia coli* Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC) 25922, de la colección de cultivos del Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM), Nodo Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel (INHRR).

La acción antibacteriana se evidenció por la aparición de un halo de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor del disco, cuyo diámetro se midió con una regla y los valores se expresaron en milímetros. Los halos de inhibición se interpretaron según los valores referenciales del CLSI (2012) como sensible y resistente (Tabla 2).

Tabla 2. Criterios utilizados por el Instituto de Estándares Clínicos de Laboratorio (2012) para la determinación de la susceptibilidad bacteriana de acuerdo al tamaño del halo de inhibición.

Antibiótico	Criterios (milímetros)	
	Sensible	Resistente
Amikacina	≥17	≤14
Gentamicina	≥15	≤12
Ampicilina	≥17	≤13
Cloranfenicol	≥18	≤12
Trimetoprim/sulfametoxazol	≥16	≤10
Tetraciclina	≥15	≤11
Ciprofloxacina	≥21	≤15
Amoxicilina/ácido clavulánico	≥18	≤13
Aztreonam	≥21	≤17
Cefoxitina	≥18	≤14
Cefuroxima	≥18	≤14
Cefotaxima	≥26	≤22
Ceftazidima	≥21	≤17
Ceftriaxona	≥23	≤19
Cefepime	≥18	≤14
Imipenem	≥23	≤19
Meropenem	≥23	≤19

### **Análisis estadístico**

Los datos se analizaron utilizando estadística descriptiva, expresados en tablas de frecuencia. Para determinar las diferencias en frecuencia de ocurrencia de cada especie de enterobacteria en músculo y babaentre municipios, se aplicaron pruebas de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ), a un nivel de confiabilidad de 95%, usando como valor esperado el promedio observado en cada municipio (Sokal y Rohlf, 1999). Estos análisis fueron hechos en una hoja de cálculo Microsoft Excel versión 2003.

La comparación de la susceptibilidad bacteriana a diversos antibióticos se evaluó mediante pruebas de análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis y su prueba *a posteriori* (Conover, 1980), utilizando dos criterios: sensible y resistente, de acuerdo a las normas del CLSI (2012). Estas establecen el criterio de acuerdo al tamaño del halo (Tabla 2). Estos análisis se efectuaron utilizando el software Infostat versión 2011 (Di Rienzo *et al.*, 2011).



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aisló un total de 674 cepas pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae de las cuales el 70,8% se encontró en el músculo del caracol y 29,2% en la baba del mismo (Figura 1). Cabe destacar que la gran cantidad de enterobacterias aisladas del músculo del caracol se debe, posiblemente, a que es la parte más expuesta al medio ambiente en el que habitualmente se desenvuelve, por lo tanto, tiene mayores probabilidades de contaminación. Al respecto, investigaciones realizadas en Indonesia por Utomo *et al.* (1991), quienes llevaron a cabo estudios bacteriológicos en el caracol gigante africano *A. fulica*, concluyeron que la carga bacteriana en estos moluscos terrestres es de elevada patogenicidad y está relacionada con el hábitat en particular en el cual se desarrollan.

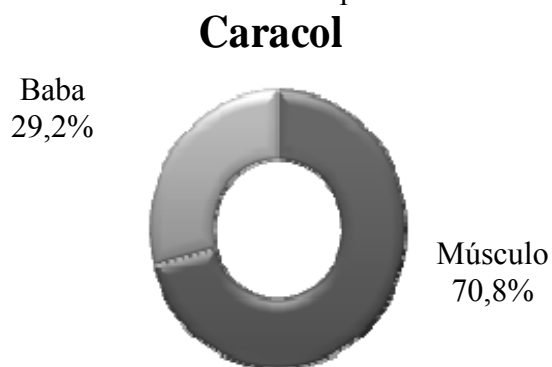


Figura 1. Porcentaje de cepas aisladas en el músculo y la baba de *A. fulica*.

Las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) es un valor que indica el grado de contaminación microbiológica de un ambiente y expresa el número relativo de microorganismos presentes en un determinado volumen (Oie y Kamiya, 2002). En este estudio, el conteo en ambas muestras resultó relativamente alto, alcanzando valores mayores a  $10^5$  UFC/g en caso del músculo y  $10^5$  UFC/ml en caso de la baba.

Tras el estudio bacteriológico de los moluscos provenientes de los distintos municipios del estado Sucre, se observó que el mayor número de aislamientos correspondió a los municipios Andrés Mata (18,2%) y Bolívar (17,8%), probablemente debido a que las

zonas donde fueron recolectados los caracoles presentaban una marcada contaminación fecal, ocasionada por los habitantes de ambos sectores (Tabla 3). Seguidos de estos municipios estuvo Andrés Eloy Blanco con 16,6% de aislamiento bacteriano y Sucre con 16,3%. Ribero fue el municipio con menor porcentaje de enterobacterias aisladas.

Tabla 3. Distribución porcentual de enterobacterias aisladas del músculo y la baba de caracoles *A. fulica* procedentes de seis municipios del estado Sucre, septiembre – noviembre de 2011.

Municipios	Número de cepas	Porcentaje (%)
Andrés Mata	123	18,2
Bolívar	120	17,8
Andrés Eloy Blanco	112	16,6
Sucre	110	16,3
Mejía	105	15,6
Ribero	104	15,4
Total	674	100

Mediante las pruebas bioquímicas diferenciales se identificaron 9 especies: *Citrobacterfreundii*, *C. amalonaticus*, *Escherichiacoli*, *Enterobacteraerogenes*, *E. gergoviae*, *Klebsiellapneumoniae*, *K. ozaenae*, *Proteusmirabilisy Salmonellaenteritidis*. Estos resultados coinciden con los de Montiel *et al.* (2005), quienes expresan que estos son los géneros bacterianos frecuentemente encontrados en *A. fulica*.

De manera general, tanto para el músculo como para la baba de los moluscos recolectados, las especies bacterianas con mayor porcentaje de aislamiento fueron *E. coli*, representando el 24,3% del total, seguida de *K. pneumoniae* con 21,7%, *E. aerogenes* y *C. freundi* con 16,4% y 12,0%, respectivamente (Tablas 4 y 5). Estos resultados concuerdan con los reportados por Villena *et al.* (2010), en su estudio realizado en Perú sobre la flora bacteriana del tracto digestivo de caracoles terrestres *Helixaspersa*, en el cual se expresa que las bacterias con mayores porcentajes de aislamiento fueron *E. coli* y *K. pneumoniae*. Estas enterobacterias se caracterizan, según Pumarola *et al.* (1992), por ser poco exigentes en sus necesidades nutritivas y relativamente resistentes a la acción de los agentes externos, por cuyo motivo se encuentran como saprofitos del medio ambiente (agua, suelo, y plantas). En su mayoría se encuentran asociadas con el hombre

o los animales de sangre caliente y constituyen la mayor parte de la flora bacilar aerobia o anaerobia facultativa Gram negativa que coloniza el tubo digestivo, pero además, en ocasiones pueden intervenir en procesos patógenos intra o extraintestinales. Por otra parte, la especie con menor porcentaje de aislamiento fue *S. enteritidis* (1,3%) que es introducida al medio ambiente como resultado de la contaminación por descargas domésticas pudiendo, de este modo, ser transmitida al hombre a través de moluscos filtradores que logran concentrar hasta 50 veces la población de microorganismos presentes en el agua (Escobar, 1997). La presencia de bacterias enteropatógenas, como *Salmonella*, en ambientes acuáticos constituye un peligro latente por el hecho de ser el agua una de las principales rutas de transmisión de este microorganismo, lo que constituye una alarma en los municipios donde fueron aisladas ya que son zonas rodeadas de ríos utilizadas con fines turísticos y no existe protección ambiental por parte de los pobladores que causan contaminación fecal. La presencia de *Salmonella* en la comunidad se ha incrementado con el tiempo, lo que es indicativo que las condiciones de higiene y salubridad se están deteriorando provocando la contaminación por estos patógenos.

Tabla 4. Frecuencia de enterobacterias aisladas del músculo de caracoles gigantes africanos *A. fulica* procedentes de seis municipios del estado Sucre, septiembre – noviembre de 2011.

B	Municipio						
	Andrés Mata n (%)	Bolívar n (%)	Andrés Eloy Blanco n (%)	Rivero n (%)	Sucre n (%)	Mejía n (%)	T n (%)
1	20 (3,0)	19 (2,8)	16 (2,4)	17 (2,5)	17 (2,5)	16 (2,4)	105 (15,6)
2	16 (2,4)	15 (2,2)	17 (2,5)	15 (2,2)	15 (2,2)	14 (2,1)	92 (13,6)
3	5 (0,7)	3 (0,5)	4 (0,6)	5 (0,7)	5 (0,7)	3 (0,5)	25 (3,7)
4	13 (1,9)	14 (2,1)	12 (1,8)	10 (1,5)	13 (1,9)	15 (2,2)	77 (11,4)
5	3 (0,5)	5 (0,7)	4 (0,6)	7 (1,0)	6 (0,9)	4 (0,6)	29 (4,3)
6	11 (1,6)	15 (2,2)	9 (1,3)	10 (1,5)	10 (1,5)	8 (1,2)	63 (9,3)
7	2 (0,3)	3 (0,5)	5 (0,7)	2 (0,3)	4 (0,6)	3 (0,5)	19 (2,9)
8	12 (1,8)	9 (1,3)	13 (1,9)	7 (1,0)	11 (1,6)	10 (1,5)	62 (9,1)
9	2 (0,3)	0 (0,0)	1 (0,2)	1 (0,2)	0 (0,0)	1 (0,2)	5 (0,9)
T	84 (12,5)	83 (12,3)	81 (12,0)	74 (10,9)	81 (11,9)	74 (11,2)	477 (70,8)

B: bacterias; 1: *E. coli*; 2: *K. pneumoniae*; 3: *K. ozaenae*; 4: *E. aerogenes*; 5: *E. gergoviae*; 6: *C. freundii*; 7: *C. amaloniticus*; 8: *P. mirabilis*; 9: *S. enteritidis*; n: número de especies; (%): porcentaje; T: total.

Tabla 5. Frecuencia de enterobacterias aisladas de la baba de caracoles gigantes africanos *A. fulica* procedentes de seis municipios del estado Sucre, septiembre – noviembre de 2011.

B	Municipio						
	Andrés Mata n (%)	Bolívar n (%)	Andrés Eloy Blanco n (%)	Rivero n (%)	Sucre n (%)	Mejía n (%)	T n (%)
1	13 (1,9)	12 (1,8)	7 (1,0)	9 (1,3)	8 (1,2)	10 (1,5)	59 (8,7)
2	12 (1,8)	9 (1,3)	11 (1,6)	7 (1,0)	8 (1,2)	8 (1,2)	55 (8,1)
3	2 (0,3)	0 (0,0)	1 (0,2)	2 (0,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (0,8)
4	6 (0,9)	7 (1,0)	4 (0,6)	4 (0,6)	5 (0,7)	8 (1,2)	34 (5,0)
5	0 (0,0)	1 (0,2)	1 (0,2)	1 (0,2)	1 (0,2)	0 (0,0)	4(0,6)
6	3 (0,5)	5 (0,7)	2 (0,3)	4 (0,6)	4 (0,6)	0 (0,0)	18 (2,7)
7	1 (0,2)	0 (0,0)	1 (0,2)	0 (0,0)	1 (0,2)	0 (0,0)	3 (0,6)
8	2 (0,3)	2 (0,3)	4 (0,6)	1 (0,2)	2 (0,3)	4 (0,6)	15 (2,3)
9	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,2)	0 (0,0)	1 (0,2)	2 (0,4)
T	39 (5,9)	37 (5,4)	31 (4,7)	30 (4,5)	29 (4,4)	31 (4,7)	19 (29,2)

B: bacterias; 1: *E. coli*; 2: *K. pneumoniae*; 3: *K. ozaenae*; 4: *E. aerogenes*; 5: *E. gergoviae*; 6: *C. freundii*; 7: *C. amalonaticus*; 8: *P. mirabilis*; 9: *S. enteritidis*; n: número de especies; (%): porcentaje; T: total.

En cuanto a las pruebas de susceptibilidad *in vitro* a los antimicrobianos, los resultados muestran que las cepas aisladas expresaron patrones de resistencia variables.

Los aminoglucósidos constituyen un importante grupo de antibióticos que por su espectro antibacteriano y su acción bactericida tienen gran utilidad en el tratamiento de infecciones graves causadas por microorganismos Gram negativos. Químicamente, tienen en común un anillo aminociclitol, al cual se unen diversos aminoazúcares; estos últimos generan las diferentes características farmacocinéticas y antibacterianas de estos fármacos (González y Saltigeral, 2002).

Los aminoglucósidos usados en este estudio fueron amikacina y gentamicina (Tabla 6). Gran parte de las cepas aisladas expresaron alta sensibilidad a la amikacina, sin embargo, existen porcentajes de cepas resistentes a este antibiótico, entre ellas: *C. freundii* (34,6%), *E. gergoviae* (40,0%) y *C. amalonaticus* (40,9%), que probablemente se deba a la presencia de enzimas aminoglucósido-acetiltransferasa (AAC), que acetilan grupos aminos utilizando como cofactor la acetil-coenzima A, específicamente la enzima

acetilante AAC (6')-I que inactiva a la amikacina pero no a la gentamicina (Mella *et al.*, 2004). Resultados similares fueron reportados por Watkins y Simkiss (2008), al evaluar las bacterias aisladas de caracoles *H. lucorum*, encontrando elevada resistencia en especies de *Enterobacter* y *Citrobacter* frente a estos antimicrobianos.

Con respecto a la gentamicina, *E. aerogenes*, *E. gergoviae*, *C. freundii* y *C. amalonaticus* expresaron 100% de sensibilidad, mientras que las especies de *Klebsiella* mostraron un 40,0% de resistencia, y es posible que ocurra debido a la producción de enzimas AAC (3)-II que inactivan a dicho antibiótico (Tabla 6). Esta enzima, modificante de aminoglucósido, ha sido informada en Chile, con un importante incremento de cepas que la producen, posiblemente a causa del uso frecuente de este aminoglucósido (Mella *et al.*, 2004). Estos resultados coinciden con los de Watkins y Simkiss (2008), que reportan resistencia a la gentamicina en cepas de *K. pneumoniae* aisladas de *H. lucorum*.

Tabla 6. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en *A. fulica* frente a aminoglucósidos.

Especies	Porcentaje de susceptibilidad (%)			
	Amikacina		Gentamicina	
	S	R	S	R
<i>E. coli</i>	97,0	3,1	86,6	13,5
<i>K. pneumoniae</i>	100	0,0	60,0	40,0
<i>K. ozaenae</i>	96,7	3,3	60,0	40,0
<i>E. aerogenes</i>	100	0,0	100	0,0
<i>E. gergoviae</i>	60,0	40,0	100	0,0
<i>C. freundii</i>	65,4	34,6	100	0,0
<i>C. amalonaticus</i>	59,1	40,9	100	0,0
<i>P. mirabilis</i>	100	0,0	92,2	7,8

S: sensible; R: resistente; (%): porcentaje.

Parte de la resistencia antimicrobiana en bacterias Gram negativas se debe a la reducción de entrada debido al mecanismo de disminución de la permeabilidad de la membrana, causado por la poca cantidad de proteínas específicas porinas, especialmente de la proteína F (Ompf). Esto produce un espectro de resistencia frente al cloranfenicol, trimetoprim/sulfametoxazol, quinolonas y tetraciclinas. Por este medio, la resistencia es

usualmente baja por lo que sólo logra impedir u obstruir antes que prevenir completamente y su significado clínico se ve cuando otro mecanismo de resistencia es activado (Lakshmi *et al.*, 2000).

El cloranfenicol es un antibiótico con efecto bacteriostático, aunque en ciertas especies puede ser bactericida, presenta un amplio espectro de acción interfiere en la síntesis proteica bacteriana (González y Saltigeral, 2002). En todas las cepas se observaron diferentes porcentajes de resistencia al cloranfenicol, probablemente, debido a la producción de la enzima cloranfenicol acetiltransferasa que es el mecanismo más utilizado por las bacterias Gram negativas para resistir a dicho antimicrobiano (Tabla 7). Esta enzima desactiva el cloranfenicol enlazando uno o dos grupos acetilo derivados del acetil-S-coenzima A, a los grupos hidroxilo del cloranfenicol. El antibiótico se convierte en monoacetato o diacetato que son incapaces de adherirse a la subunidad 50s ribosomal de la bacteria y por tanto no se da la función normal del cloranfenicol que es inhibir la actividad de la peptidiltransferasa (Lakshmi *et al.*, 2000).

El trimetoprim/sulfametoxazol es una combinación de diaminopirimidina y una sulfonamida; cada uno por separado posee una acción bacteriostática, pero unidos generan una actividad sinérgica que muestra efecto bactericida (González y Saltigeral, 2002). En la tabla 7 se expresa que *E. coli* fue la única cepa que obtuvo un 100% de sensibilidad. El resto de las cepas estudiadas presentaron una notable resistencia a dicho antibiótico. La alta resistencia de *Citrobacter* se relaciona con resistencias de tipo cromosomal o mediada por plásmidos. Esto permite inhibir pasos secuenciales de la síntesis de tetrahidrofolato desde el ácido paraminobenzoico, el cual es el requerido para la síntesis bacteriana de los aminoácidos (Zolezzi, 1997). Este mecanismo de resistencia también es compatible en cepas de *K. pneumoniae*, lo que indica que los altos porcentajes de resistencia que se reportan para al trimetoprim/sulfametoxazol para dicha bacteria en la presente investigación se debe a tal mecanismo. Otras bacterias resistentes a trimetoprim/sulfametoxazol tienen disminución en la permeabilidad al compuesto. Junto con este mecanismo de resistencia existe un

mecanismo de egreso intracelular (Winokuret *al.*, 2010).

Tabla 7. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en *A. fulica* frente al cloranfenicol y al trimetoprim/sulfametoxazol.

Especies	Porcentaje de susceptibilidad (%)			
	Cloranfenicol		Trimetoprim/sulfametoxazol	
	S	R	S	R
<i>E. coli</i>	79,9	20,1	100	0,0
<i>K. pneumoniae</i>	82,3	17,7	71,4	28,6
<i>K. ozaenae</i>	73,3	26,7	33,3	66,7
<i>E. aerogenes</i>	79,3	20,7	36,9	63,1
<i>E. gergoviae</i>	85,7	14,3	28,6	71,4
<i>C. freundii</i>	81,5	18,5	39,5	60,5
<i>C. amalonaticus</i>	59,1	40,9	79,1	20,9
<i>P. mirabilis</i>	97,4	2,6	54,4	45,6
<i>S. enteritidis</i>	71,4	28,6	21,4	78,6

S: sensible; R: resistente; (%): porcentaje.

Las tetraciclinas son fármacos principalmente bacteriostáticos (González y Saltigeral, 2002). En este estudio *E. coli* y las especies de *Citrobacter* obtuvieron un 100% de sensibilidad, mientras que el resto de las cepas presentaron una resistencia relativamente baja frente a este antibiótico (Tabla 8). Este antimicrobiano no fue probado con las cepas de *P. mirabilis*, ya que presentan resistencia natural a las tetraciclinas debido a expulsión por mecanismos activos del antibiótico como la bomba TetJ. El gen asociado es cromosómico y su expresión es inducida por la presencia de tetraciclinas, aunque también se han descrito mecanismos de expulsión de expresión constitutiva. Asimismo, se ha detectado resistencia transferible asociada a plásmidos. El sistema de transporte AcrAB también se asocia a la resistencia intrínseca de algunas especies del género *Proteus* a las tetraciclinas (Hickman *et al.*, 2002).

La ciprofloxacina es un antibiótico perteneciente al grupo de las fluoroquinolonas con efectos bactericidas de amplio espectro. Funciona inhibiendo la ADN girasa, un tipo II de topoisomerasa, que es una enzima necesaria para separar el ADN replicado, inhibiendo la división celular (González y Saltigeral, 2002). Las bacterias en estudio mostraron cierta resistencia a este antibiótico (Tabla 8). Estos resultados coinciden con los señalados por Charrier *et al.* (2006), en un estudio bacteriológico realizado en caracoles *H. aspersa*, e

indican que probablemente corresponda a una modificación del ácido desoxirribonucleico girasa, que es un mecanismo genético de resistencia adquirida. Sin embargo, estos resultados difieren de los de Almonacid *et al.* (2008), quienes en su trabajo de caracoles marinos, encontraron enterobacterias 100% sensibles a dicho antibiótico. No obstante, en el presente estudio, las especies de *Citrobacter* resultaron 100% sensibles frente a esta quinolona.

Tabla 8. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en *A. fulica* frente a tetraciclina y a ciprofloxacina.

Especies	Porcentaje de susceptibilidad (%)			
	Tetraciclina		Ciprofloxacina	
	S	R	S	R
<i>E. coli</i>	100	0,0	88,4	11,6
<i>K. pneumoniae</i>	81,0	19,1	94,6	5,4
<i>K. ozaenae</i>	70,0	30,0	83,3	16,7
<i>E. aerogenes</i>	86,5	13,5	84,7	15,3
<i>E. gergoviae</i>	77,1	22,7	71,4	28,6
<i>C. freundii</i>	100	0,0	100	0,0
<i>C. amalonaticus</i>	100	0,0	100	0,0
<i>P. mirabilis</i>	-	-	88,3	11,7
<i>S. enteritidis</i>	-	-	85,7	14,3

S: sensible; R: resistente; (%): porcentaje.

Los betaláctamicos siguen siendo los antibióticos más usados. Sin embargo, por ser los primeros introducidos en clínica, la resistencia bacteriana ante estos fármacos ha constituido un problema por más de 40 años (Martín *et al.*, 2002).

Se han estudiado detalladamente los mecanismos de resistencia microbiana ante los betaláctamicos y las bacterias han desarrollado un limitado número de mecanismos de resistencia (Martín *et al.*, 2002). Sin embargo, la producción de betalactamasas representa el mecanismo más importante de resistencia de algunas bacterias Gram negativas. No obstante, cualquier microorganismo tiene la capacidad de desarrollar más de un mecanismo de resistencia a la vez, pudiendo uno de ellos ser el origen más importante de la expresión de resistencia o ser sólo un factor contribuyente que ayuda a la eficacia de la expresión de la misma (Sahm y Tenover, 2009).



La ampicilina es un antimicrobiano perteneciente a la familia de las aminopenicilinas, con efecto bactericida. Inhibe la síntesis y la reparación de la pared bacteriana y es de amplio espectro (González y Saltigeral, 2002). En este estudio se observa que *P. mirabilis* fue la única especie que resultó 100% sensible a esta penicilina (Tabla 9). Sin embargo, *S. enteritidis* presentó el mayor porcentaje de resistencia (35,4%), probablemente debido a la captación de nuevo material genético. Por otro lado, la ampicilina no fue probada con *K. pneumoniae* y *C. amalonaticus* que presentan resistencia natural a dicho antibiótico.

El aztreonam es un antibiótico monobactámico con efecto bactericida que inhibe la síntesis de pared celular bacteriana (González y Saltigeral, 2002). En el presente estudio, las cepas de *K. pneumoniae* y *K. ozaenae* revelaron 100% de sensibilidad frente a este antibiótico (Tabla 9), no obstante, las especies de *Citrobacter* fueron las que presentaron mayores valores de resistencia, probablemente debido a la producción de betalactamasas de espectro expandido (BLEE) que presentan un espectro incrementado de actividad hidrolítica contra el aztreonam (Brewer y Hellinger, 2007). Estos resultados son similares a los reportados por Watkins y Simkiss (2008), en los que las enterobacterias aisladas de caracoles *H. lucorum* presentaron elevada resistencia a este antibiótico.

Tabla 9. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en *A. fulica* frente a la ampicilina y aztreonam.

Especies	Porcentaje de susceptibilidad (%)			
	Ampicilina		Aztreonam	
	S	R	S	R
<i>E. coli</i>	74,8	25,2	93,9	6,1
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	100	0,0
<i>K. ozaenae</i>	98,6	1,4	100	0,0
<i>E. aerogenes</i>	90,0	10,0	94,6	5,4
<i>E. gergoviae</i>	87,1	12,9	85,7	14,3
<i>C. freundii</i>	88,3	11,7	63,0	37,0
<i>C. amalonaticus</i>	-	-	68,2	31,8
<i>P. mirabilis</i>	100	0,0	74,0	31,8
<i>S. enteritidis</i>	64,6	35,4	-	-

S: sensible; R: resistente; (%): porcentaje.

Bush y Macalinstal (1993) aseveran que la gran y frecuente producción de betalactamasas como mecanismos de resistencia condujo a la síntesis y purificación de

sustancias que inhiben su actividad; éstos son los inhibidores de betalactamasas, los cuales bloquean dichas enzimas y representan el mecanismo más específico desarrollado para evadir la resistencia a los betalactámicos. Ésto constituyó un importante logro, pues con esos fármacos se recupera la actividad de betalactámicos clásicos como la amoxicilina que, combinada con el ácido clavulánico, produjo 100% de sensibilidad en la mayoría de las especies en estudio. *C. freundii* y *E. gergoviae* presentaron muy baja resistencia a este antibiótico (Tabla 10).

Tabla 10. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en *A. fulica* frente a amoxicilina/ácido clavulánico.

Especies	Porcentaje de susceptibilidad (%)	
	Amoxicilina/ácido clavulánico	
	S	R
<i>E. coli</i>	97,6	2,4
<i>K. pneumoniae</i>	100	0,0
<i>K. ozaenae</i>	100	0,0
<i>E. aerogenes</i>	100	0,0
<i>E. gergoviae</i>	71,4	28,6
<i>C. freundii</i>	80,3	19,8
<i>C. amalonaticus</i>	100	0,0
<i>P. mirabilis</i>	100	0,0

S: sensible; R: resistente; (%): porcentaje.

Cefoxitina y cefuroxima son cefalosporinas de segunda generación con un efecto básico de tipo bactericida, actúan uniéndose e inactivando receptores específicos de la membrana celular bacteriana que son enzimas fundamentales en la síntesis del peptidoglicano de la pared celular (González y Saltigeral, 2002). De las bacterias aisladas, *P. mirabilis* y las especies de *Klebsiella* revelaron 100% de sensibilidad frente a la cefoxitina. Sin embargo, algunas bacterias presentaron resistencia a dicho antimicrobiano: *E. aerogenes* con 34,2%, seguida de *C. freundii* (30,9%) y *C. amalonaticus* (27,3%); en el resto de las cepas la resistencia fue poco significativa. Con respecto a la cefuroxima, *C. amalonaticus* expresó el 100% de sensibilidad. *K. ozaenae* y *E. gergoviae* demostraron la mayor resistencia, 46,7% y 25,7%, respectivamente (Tabla 11). La actividad antibacteriana de las cefalosporinas depende de su capacidad para penetrar en la pared celular bacteriana, para resistir a la inactivación de betalactamasas y para unirse e inactivar las proteínas

fijadoras de penicilinas. La resistencia bacteriana puede darse en cada uno de estos mecanismos e incluso aparecer de una forma sinérgica en varios de ellos, siendo el más importante la producción de betalactamasas que hidrolizan el enlace amido-cíclico del anillo betalactámico y lo hacen inactivo (Rodríguez *et al.*, 2003).

Tabla 11. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en *A. fulica* frente a cefalosporinas de segunda generación.

Especies	Porcentaje de susceptibilidad (%)			
	Cefoxitina		Cefuroxima	
	S	R	S	R
<i>E. coli</i>	93,9	6,1	96,3	3,7
<i>K. pneumoniae</i>	100	0,0	75,5	24,5
<i>K. ozaenae</i>	100	0,0	53,3	46,7
<i>E. aerogenes</i>	65,8	34,2	94,6	5,4
<i>E. gergoviae</i>	80,0	20,0	74,3	25,7
<i>C. freundii</i>	69,1	30,9	90,1	9,9
<i>C. amalonaticus</i>	72,7	27,3	100	0,0
<i>P. mirabilis</i>	100	0,0	97,4	2,6

S: sensible; R: resistente; (%): porcentaje.

Las cefalosporinas de tercera generación difieren del resto de las cefalosporinas porque presentan mayor resistencia a las BLEE. La tabla 12 muestra que las especies aisladas mostraron marcadas resistencias a los antibióticos cefotaxima, ceftazidima y ceftriaxona, probablemente debido a la producción de BLEE. De La Parte-Pérez *et al.* (2001) mencionan que las BLEE son una causa frecuente de resistencia de las enterobacterias, especialmente las del género *Klebsiella*, a las cefalosporinas de tercera generación. Estas enzimas fueron reportadas por primera vez en Europa en 1983; desde entonces se han extendido por todo el mundo y se han insertado en una variedad de patógenos Gram negativos. Rodríguez (2003) demostró que las bacterias Gram negativas han incrementado su resistencia a los antibióticos convencionales, como son las cefalosporinas de tercera generación, siendo éstos los fármacos aplicados más frecuentemente a nivel hospitalario. Hoy en día ha sido evidente que la presión selectiva mediante el uso de antimicrobianos de amplio espectro, particularmente de su uso indiscriminado e inadecuado, ha provocado la aparición y diseminación de mecanismo

de resistencia bacteriana (Rodríguez *et al.*, 2003) y los resultados de las pruebas de susceptibilidad obtenidas en este estudio ponen en evidencia lo anteriormente descrito, al observar altos porcentajes de cepas resistentes.

En promedio, *S. enteritidis* presentó valores más bajos de resistencia a estos antibióticos, mientras que *E. aerogenes* sólo obtuvo el 9,9% de resistencia a la ceftazidima y el 15,3% a la ceftriaxona (Tabla 12). *S. enteritidis* y *C. amalonaticus* expresaron 100% de sensibilidad a la ceftriaxona.

Tabla 12. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en *A. fulica* frente a cefalosporinas de tercera generación.

Especies	Porcentaje de Susceptibilidad (%)					
	Cefotaxima		Ceftazidima		Ceftriaxona	
	S	R	S	R	S	R
<i>E. coli</i>	44,5	55,5	59,8	40,3	50,0	50,0
<i>K. pneumoniae</i>	49,7	50,4	55,8	44,3	43,5	56,5
<i>K. ozaenae</i>	50,0	50,0	60,0	40,0	43,3	56,6
<i>E. aerogenes</i>	55,9	44,1	90,1	9,9	84,7	15,3
<i>E. gergoviae</i>	51,4	48,6	71,4	28,6	77,1	22,9
<i>C. freundii</i>	35,8	64,2	63,0	37,0	74,1	26,0
<i>C. amalonaticus</i>	50,0	50,0	63,6	36,4	100	0,0
<i>P. mirabilis</i>	39,0	61,1	46,8	53,3	29,9	70,2
<i>S. enteritidis</i>	85,7	14,3	85,7	14,3	100	0,0

S: sensible; R: resistente; (%): porcentaje.

De las cefalosporinas usadas en este estudio, cefepime presenta efecto bactericida y fue la más efectiva debido a que la mayoría de las bacterias aisladas presentaron 100% de sensibilidad (Tabla 13). González y Saltigeral (2002) consideran que cefepime es altamente estable a las betalactamasas mediadas por plásmidos y cromosomas. Algunos autores mencionan que la eficacia de este fármaco puede deberse al poco uso que se le ha dado en el tratamiento indiscriminado de infecciones (Al Jebouri, 1985; Tzocet *al.*, 2004). Sin embargo, cepas de especies como *C. freundii* y *P. mirabilis* presentaron valores muy bajos de resistencia, lo que puede significar que quizás en el medio ambiente ya estén apareciendo cepas resistentes a este antibiótico y que de alguna manera pudieran transferir esta

resistencia a otras especies bacterianas.

Tabla 13. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en *A. fulica* frente a cefepime.

Especies	Porcentaje de Susceptibilidad (%)	
	Cefepime	
	S	R
<i>E. coli</i>	100	0,0
<i>K. pneumoniae</i>	100	0,0
<i>K. ozaenae</i>	100	0,0
<i>E. aerogenes</i>	100	0,0
<i>E. gergoviae</i>	100	0,0
<i>C. freundii</i>	97,5	2,5
<i>C. amalonaticus</i>	100	0,0
<i>P. mirabilis</i>	90,9	9,1

S: sensible; R: resistente; (%): porcentaje.

Los carbapenems fueron los antimicrobianos con mejor espectro de acción, por eso son los de elección para las infecciones causadas por cepas productoras de BLEE, ya que son altamente resistentes a la hidrólisis por éstas enzimas, y la penetración a través de la membrana es excelente debido a su compacto tamaño molecular (Gildman, *et al.*, 1996). Casi todas las cepas aisladas se mostraron 100% sensibles frente al imipenem y al meropenem (Tabla 14). *P. mirabilis* expresó 10,4% de resistencia ante el imipenem, probablemente debido a una baja permeabilidad asociada a su dotación particular de porinas (Rodríguez *et al.*, 2005).

Tabla 14. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de enterobacterias aisladas en *A. fulica* frente acarbapenems.

Especies	Porcentaje de Susceptibilidad (%)			
	Imipenem		Meropenem	
	S	R	S	R
<i>E. coli</i>	100	0,0	100	0,0
<i>K. pneumoniae</i>	100	0,0	100	0,0
<i>K. ozaenae</i>	100	0,0	100	0,0
<i>E. aerogenes</i>	100	0,0	100	0,0
<i>E. gergoviae</i>	100	0,0	100	0,0
<i>C. freundii</i>	100	0,0	100	0,0
<i>C. amalonaticus</i>	100	0,0	100	0,0
<i>P. mirabilis</i>	89,6	10,4	100	0,0

S: sensible; R: resistente.; (%): porcentaje.

La resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas indica que, probablemente, éstas sean provenientes de contaminación fecal humana ya que algunos estudios señalan que las bacterias provenientes de muestras ambientales generalmente son 100% sensibles a los antibióticos probados.

Bell *et al.* (1983) y Mackeonet *al.* (1995) han establecido que la multirresistencia a antibióticos le confiere a las cepas ventajas selectivas, y éstas pueden mantener dicha propiedad 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 lo son los ríos, 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 multirresistentes a los animales y al ser humano. La selección y diseminación en la naturaleza de cepas resistentes a los antibióticos, es una práctica que se debe evadir, con el fin de mantener un balance ecológico que favorezca el predominio de bacterias susceptibles y asegurar el tratamiento efectivo de las enfermedades infecciosas humanas.

Con respecto a los resultados de los análisis estadísticos, la comparación de la frecuencia de ocurrencia de las especies bacterianas en el músculo y la baba de *A. fulica* entre municipios no mostró diferencias significativas según la prueba chi cuadrado ( $P > 0,05$ ).

Todas las bacterias evaluadas, con la excepción de *S. enteritidis*, mostraron una susceptibilidad significativamente distinta a los diferentes antibióticos probados (Tabla 15). Por su parte, la sensibilidad de *S. enteritidis* a los antibióticos no mostró diferencias significativas entre éstos.

Los resultados de las pruebas *a posteriori*, demuestran que en las pruebas de susceptibilidad aplicadas a *E. coli*, los antimicrobianos expresaron una efectividad significativamente distinta (Tabla 15); separándose dos grupos: los antibióticos cefotaxima, ceftazidima y ceftriaxona, mostraron una efectividad significativamente menor al resto, que se destacaron por su amplia efectividad.

Con respecto a *K. pneumoniae*, los antimicrobianos expresaron una efectividad significativamente distinta, pero la prueba *a posteriori* no pudo ser suficientemente sensible para separar los grupos (Tabla 15). Puede indicarse al menos que los antimicrobianos cefotaxima, ceftazidima y ceftriaxona mostraron menor efectividad en comparación con los antimicrobianos amikacina, cefoxitina, cefepime, aztreonam, amoxicilina/ácido clavulánico, ciprofloxacina, imipenem y meropenem.

En *K. ozaenae*, los antimicrobianos expresaron una efectividad significativamente distinta, pero la prueba *a posteriori* no pudo ser suficientemente sensible para separar los grupos (Tabla 15). Puede indicarse al menos que los antimicrobianos gentamicina, trimetoprim/sulfametoxazol, cefuroxima, cefotaxima, ceftazidima y ceftriaxona mostraron menor efectividad en comparación con el resto.

Los antimicrobianos ensayados en *E. aerogenes* expresaron una efectividad significativamente distinta, separándose dos grupos: el antibiótico trimetoprim/sulfametoxazol mostró una efectividad significativamente menor al resto que se destacaron por su amplia efectividad (Tabla 15).

En el caso de *E. gergoviae*, los antimicrobianos expresaron una efectividad significativamente distinta, con valores medios a elevados, pero la prueba *a posteriori* no pudo separar los grupos (Tabla 15).

Los antibióticos frente a *C. freundii*, expresaron efectividad significativamente distinta, separándose dos grupos: trimetoprim/sulfametoxazol y cefotaxima con efectividad menor al resto, que mostraron valores de efectividad medios a altos (Tabla 15).

Con *C. amalonaticus* los antimicrobianos expresaron una efectividad significativamente distinta, con valores medios a elevados, pero la prueba *a posteriori* no pudo separar los grupos. Se puede inferir al menos que los antibióticos amikacina, cloranfenicol, trimetoprim/sulfametoxazol, cefoxitina; cefotaxima, ceftazidima y aztreonam tuvieron una efectividad menor que el resto (Tabla 15).

Las diferencias en susceptibilidad de *P. mirabilis* a los diferentes antibióticos fue altamente significativa, resultando 2 grupos: los antibióticos cefotaxima, ceftazidima y ceftriaxonam menos efectivos que el resto de los antibióticos. (Tabla 15).

Sin embargo, la susceptibilidad de *S. enteritidis* a los diferentes antibióticos fue alta y no difirió significativamente entre ellos (Tabla 15).

Tabla 15. Susceptibilidad de enterobacterias provenientes de la baba y el músculo de *A. fulica* a diversos antibióticos.

Bacterias	H	P
<i>E. coli</i>	258	0,0001
<i>K. pneumoniae</i>	276	0,0001
<i>K. ozaenae</i>	80	0,0001
<i>E. aerogenes</i>	173	0,0001
<i>E. gergoviae</i>	65	0,0001
<i>C. freundii</i>	163	0,0001
<i>C. amalonaticus</i>	42	0,0001
<i>P. mirabilis</i>	349	0,0001
<i>S. enteritidis</i>	10	0,15

H: valor estadístico de Kruskal-Wallis; P: probabilidad de cometer error.



## CONCLUSIONES

Se identificaron 9 especies de enterobacterias con aislamiento mayor a  $10^5$  UFC en los diferentes municipios, lo que constituye un índice de contaminación fecal.

El porcentaje de aislamiento de enterobacterias fue mayor en el músculo que en la baba del caracol.

Las enterobacterias con mayores porcentajes de aislamiento fueron *E. coli*, *K. pneumoniae* y *E. aerogenes*.

Se aisló un 1,3% de *S. enteritidis* en los municipios Andrés Mata, Andrés Eloy Blanco, Rivero y Mejía, lo que constituye una alarma en la salud pública ya que esta enterobacteria es responsable de una gran incidencia de enfermedades gastrointestinales.

Probablemente parte de la flora presente en el caracol proviene del hábitat donde se desarrolla.

Todas las especies aisladas mostraron una amplia sensibilidad a los carbapenems y a cefepime.

La mayoría de las especies mostraron resistencia a las cefalosporinas de tercera generación.

La resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas indica que, probablemente, éstas sean provenientes de contaminación fecal humana.

Los hallazgos del presente trabajo sugieren que las bacterias presentes en el ambiente pueden contribuir al emergente problema de la diseminación de la resistencia antibiótica.

## RECOMENDACIONES

Prevención y/o control de entrada de nuevas especies de moluscos.

Erradicación de algunas especies ya establecidas.

Difundir los resultados de esta investigación a las autoridades sanitarias de la región para establecer estrategias de acción que conlleven a evitar la afectación de la salud de los pobladores en los municipios perturbados por la propagación del caracol.

Debido a la importancia que tiene *Salmonella* en la incidencia de enfermedades gastrointestinales, se hace necesaria su vigilancia en el medio ambiente para lo cual es preciso desarrollar estudios que faciliten el aislamiento, identificación y diferenciación de estirpes patogénicas en ambientes naturales.

Realizar otros ensayos que permitan detectar distintos tipos de microorganismos presentes en el caracol que puedan ser patógenos al hombre.

La vigilancia es fundamental como estrategia de contención de la resistencia antimicrobiana, permitiendo: detectar patrones de cambios de sensibilidad a resistencia, implementar medidas de control en el uso de antimicrobianos, previniendo la diseminación de cepas bacterianas resistentes y multirresistentes y evaluar el impacto de las intervenciones.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, A. y Mendoza, A. 2009. *Especies exóticas invasoras: Impactos sobre las poblaciones de flora y fauna, los procesos ecológicos y la economía*. Segunda Edición. Editorial Conabio. México.
- Al Jebouri, M. 1985. A note on antibiotic resistance in the bacterial flora of raw sewage and sewage polluted river Tigris in Mosul, Iraq. *Journal of Applied Bacteriology*, 58: 401-405.
- Almonacid, P.; Crespo, J. y Zapata, J. 2008. Comparación e implicaciones para la helicultura de la capacidad reproductiva en condiciones de laboratorio de ejemplares adultos de *Helix aspersa* (Müller, 1774) (Gastropoda, Pulmonata) de dos localidades de Chile. *Agro-Ciencia*, 20: 47-52.
- Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45: 493-496.
- Bell, J.; Elliot, G. y Smith, D. 1983. Influence of sewage treatment and urbanization on selection multiple resistance in fecal coliform populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 46: 227-232.
- Brewer, N. y Hellinger W. 2007. Antimicrobial treatment. Carbapenems and monobactams: imipenem, meropenem, and aztreonam. *Mayo Clinic Proceedings*, 74: 420-434.
- Bush, K. y Macalinstal, C. 1993. Kinetic interactions of tazobactam with  $\beta$ -lactamases from all major structural genres. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37: 851-858.
- Carvalho, O.; Teles, H.; Mota, C.; Mendonça, L. y Lenzi, H. 2003. Potential of *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca: Gastropoda) as intermediate host of the *Angiostrongylus costaricensis* Moreira y Cespedes. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36: 743-745.
- Charrier, M.; Fonty, G.; Gaillard, B.; Ainouche, K. y Andant, G. 2006. Isolation and characterization of cultivable fermentative bacteria from the intestine of two edible snails, *Helix pomatia* and *Cornuaspersum* (Gastrópoda: Pulmonata). *Biological Research*, 39: 669-681.
- Civeyrel, L. y Simberloff, D. 1996. A tale of two snails: is the cure worse than the disease. *Biodiversity and Conservation*, 5: 1231-1252.

- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twentieth informational supplement*. M100-S19. 29: 1-67.
- Conover, W. 1980. *Practical nonparametric statistics*. Segunda Edición. Editorial John Wiley & Sons, Nueva York.
- Correoso, M. 2006. Estrategia preliminar para evaluar y erradicar *Achatina fulica* (Gastropoda: Achatinaceae) en Ecuador. *Boletín Técnico 6, Serie Zoológica*, 2: 45-52.
- Craze, P. y Mauremootoo, J. 2002. A test of methods for estimating population size of the invasive land snail *Achatina fulica* in dense vegetation. *Journal of Applied Ecology*, 39: 653-660.
- Cuellar, R. 2004. *Helicicultura. Cría moderna de caracoles*. Editorial Mundi-prensa. Perú.
- De La Parte-Pérez, M.; Brito, A.; Guzmán, M. y Carmona, O. 2001. Resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a los antimicrobianos en Venezuela. Análisis de una década. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 21: 68-75.
- Dharmaraju, E. 1984. Transport and the spread of crop pests in tropical Polynesia. *Commerce and the Spread of Pests and Disease Vectors*, 16: 257-272.
- Díaz, J. y Puyana, M. 1994. *Moluscos del Caribe colombiano*. Segunda edición. Editorial Presencia. Bogotá.
- Di Rienzo, J.; Casanoves, F.; Balzarini, M.; Gonzalez, L.; Tablada, M. y Robledo, C. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Escobar, M. 1997. Use of ribotyping for characterization of *Salmonella* serotypes. *Journal of Applied Microbiology*, 31: 37-233.
- Férussac, A. 1821. *Tableaux systématique des animaux mollusques classés en familles naturelles, les mollusques terrestres et fluviatiles, vivants et fossiles*. Editorial Arthus Bertrand. Paris.
- Fonseca, M. y Nascimento, L. 2004. Occurrence of *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Gastropoda: Achatinidae) in three municipalities in the north region of São Paulo state, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*, 71: 654-655.
- Forbes, B.; Sahm, D. y Weissfeld, A. 2004. *Diagnóstico microbiológico*. Undécima Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

- García, C. 1987. *Análisis microbiológico de los alimentos*. Editorial Ciencia 3 S.A. Venezuela.
- Gildman, D.; Weintein, R.; Wenzel, R.; Tublan, O.; Duma, R. y Gaynes, R. 1996. Strategies to prevent and control the emergence and spread of antimicrobial resistant microorganisms in hospitals. A challenge to hospital leadership. *Clinical Infectious Diseases*, 275: 234-240.
- González, N. y Saltigeral, P. 2002. *Antimicrobianos, antivirales, antiparasitarios, antimicóticos e inmunomoduladores*. Quinta Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México.
- Guillén, E. “Escuela protesta por invasión de caracoles africanos gigantes”. El Universal, 7 de noviembre de 2007. Pág. 6.
- Guillén, E. “Caracoles Africanos como plaga potencial y riesgo para la salud en Venezuela”. El Universal, 23 de mayo de 2009. Pág. 5.
- Hickman, F.; Steigerwalt, A.; Farmer, J. y Brenner, D. 2002. Identification of *Proteus penneri* sp. formerly known as *Proteus vulgaris* indole negative or as *Proteus vulgaris* biogrup 1. *American Journal of Clinical Pathology*, 15: 102-1097.
- Iguarán, M. “En el estado Sucre tratan de controlar plaga de caracol gigante africano”. El Nacional, 12 de agosto de 2009. Pág. 7.
- Icani, R.; Caleiras, E.; Martín, M. y González, C. 2007. Human infection by *A. costarricense* in Venezuela. *Applied and Environmental Microbiology*, 49: 197-200.
- Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P. y Washington, W. 2008. *Diagnóstico microbiológico*. Quinta Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.
- Lakshmi, K.; Jalal, H. y Shahriar, M. 2000. Aminoglycosides: Perspectives on mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44: 3249-3256.
- Liboria, M.; Morales, G.; Sierra, I. y Pino, L. 2010. Primer hallazgo en Venezuela de huevos de *Schistosoma mansoni* y de otros helmintos de interés en salud pública, presentes en heces y secreción mucosa del molusco terrestre *Achatina fulica* (Bowdich, 1822). *Zootecnia Tropical*, 28: 383-394.
- Mac Faddin, J. 2004. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Tercera Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

- Mackeon, D.; Calabrese, J. y Bissonnettes, G. 1995. Antibiotic resistant Gram negative bacteria in rural ground water supplies. *WaterResearch*, 29: 1902-1908.
- Martín, N.; Carmona, O.; Guzmán, B. y Grupo Venezolano de Vigilancia de la Resistencia Bacteriana (GVRB). 2002. Efecto de inhibidores de  $\beta$ -lactámicos en bacilos Gram negativos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 22: 37-43.
- Martínez, R. y Martínez, E. 2008. Nota acerca de la *Achatina (Lissachatina) fulica* (Bowdich, 1822), peligroso caracol africano (Pulmonata-Achatinidae) introducido en Venezuela. *Acta Biológica Venezuelica*, 17: 37-40.
- Matthews, S. 2005. *Programa Mundial sobre Especies Invasoras*. Editorial Brand, K. Argentina.
- Mella, S.; Sapúlveda, M.; Gonzáles, G.; Bello, H.; Dominguez, M.; Zemelman, R. y Ramírez, C. 2004. Aminoglucósidos-aminociclitolos. Características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. *Revista Chilena de Infectología*, 21: 330-338.
- Montiel, M.; Zambrano, J. y Castejón, O. 2005. *Indicadores bacterianos de contaminación fecal y colifagos en el agua de la Laguna de Sinamaica, Estado Zulia, Venezuela*. Editorial Ciencia. Venezuela.
- Morocoima, A. “El caracol gigante se alimenta de las heces de las ratas y por eso se contamina”. El Tiempo, 7 de agosto de 2011. Pág. 4.
- Oie, S. y Kamiya, A. 2002. Microbial contamination of antiseptics and disinfectants. *American Journal of Infection Control*, 24: 389-395.
- Paiva C, 1999. “Espacio de la Inspectoría de Sanidad Agropecuaria de Puerto Cabello”. <<http://www.geocities.com/RainForest/9468/achattr.htm>.> (24/01/2010).
- Pérez, G. 1984. *El Caracol: Cría y Explotación*. Editorial Mundi Prensa. Madrid.
- Pumarola, A.; Rodríguez, T.; García, R. y Piédrola, A. 1992. *Microbiología y parasitología médica*. Segunda edición. Masson-Salvat Medicina. Ediciones Científicas y Técnicas, S.A. Barcelona, España.
- Raut, K. y Barker, G. 2002. *Achatina fulica Bowdich and other Achatinidae as pests in tropical agriculture*. Editorial Barker. Wallingford.
- Rees, W. 1950. *Achatina's: voyage of a globetrotting giant snail*. *Loris*, 5: 159-161.
- Ribas, M.; Vázquez, S.; Laferté, J. y Álvarez, M. 1992. UME para detectar anticuerpos IgG al virus Herpes simple. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 44: 20-27.

- Robinson, D. 2002. IICA Report on Giant African Snails. *Workshop*, 25: 4-5.
- Rodríguez, C.; Juárez, J.; De Mier, C.; Pugliese, L.; Blanco, G.; Vay, C. y Famiglietti, A. 2003. Resistencia a antibióticos de bacilos gram negativos aislados en unidades de cuidados intensivos. Análisis comparativo de dos periodos (1998-2001). *Revista Medicina (Buenos Aires)*, 63: 800-807.
- Rodríguez, C.; Radice, M.; Perazzi, B.; Castro, S.; Juárez, J. y Santini, P. 2005. Resistencia enzimática a betalactámicos en el género *Proteus* y evaluación de los fenotipos y genotipos de resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación en *Proteus mirabilis*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 23: 122-126.
- Rodríguez, K. 2003. Incidencia de neumonía nosocomial en pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital Central "Dr. Luis Ortega" de Porlamar, Estado Nueva Esparta. Trabajo de grado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Sahm, D. y Tenover, F. 2009. Surveillance for the emergence and dissemination of antimicrobial resistance in bacteria. *Infectious disease clinics of North America*, 11: 767-783.
- Sokal, R. y Rohlf, J. 1999. *Biometry*. Tercera Edición. Editorial W.H. Freeman, New York.
- Thakur, S. y Kumari, R. 1998. Seasonal behaviour of the giant African snail *Achatina fulica* in Bihar. *Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring*, 8: 153-160.
- Tomiyama, K. 1993. Growth and maturation pattern in the African giant snail, *Achatina fulica* (Férussac) (Stylommatophora: Achatinidae). *Venus*, 52: 87-100.
- Tomiyama, K. 1994. Courtship behaviour of the giant African snail, *Achatina fulica* (Férussac) (Stylommatophora: Achatinidae) in the field. *Journal of Molluscan Studies*, 60: 26-47.
- Tzoc, E.; Anas, M. y Valiente C. 2004. Efectos de las aguas residuales hospitalarias sobre los patrones de resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Aeromonas*. *Revista Biomédica*, 15: 165-172.
- Utomo, N.; Poernomo, S. y Hardjoutomo, S. 1991. A bacteriological study on earth snails (*Achatina fulica*). *Penyakit Hewan*, 23: 15-17.
- Villena, M.; Siever, C.; Soto, J. y Marco, H. 2010. Flora bacteriana del tracto digestivo de caracoles *Helix aspersa* Müller bajo dos sistemas de crianza. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 56: 267-274.

Watkins, B. y Simkiss, K. 2008. Interactions between soil bacteria and the molluscan alimentary tract. *The Journal of Molluscan Studies*, 56: 267-274.

Winokur, P., Canton, R., Casellas, J. y Legakis, N. 2010. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum  $\beta$ -lactamase phenotype of isolates from Europe, the Americas and the Western Pacific Region. *Clinical Infectious Diseases*, 32: 94-101.

Zolezzi, A. 1997. Antibióticos en gastroenterología. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 17: 18-23.



## HOJAS DE METADATOS

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

<b>Título</b>	Frecuencia y Susceptibilidad Antimicrobiana de las Enterobacterias Presentes en el Caracol Gigante Africano <i>Achatina fulica</i> , en el Estado Sucre, Venezuela (Modalidad: Tesis de Grado)
<b>Subtítulo</b>	

#### Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Yegres M, Marlin M.	<b>CVLAC</b>	17910452
	<b>e-mail</b>	marlin_yegres@hotmail.com
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	

#### Palabras o frases claves:

<i>Achatina fulica</i> , caracol gigante africano, susceptibilidad, enterobacterias
---

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Departamento de Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se evaluó la frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana de las enterobacterias presentes en caracoles *Achatina fulica* procedentes de las zonas montañosas de los municipios Andrés Mata, Bolívar, Andrés Eloy Blanco, Ribero, Sucre y Mejía, del estado Sucre, durante el periodo septiembre – noviembre 2011. Se recolectaron 20 ejemplares en cada municipio. Se realizó la cuantificación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de las muestras, resultando valores mayores a  $10^5$  UFC/g en el músculo y  $10^5$  UFC/ml en la baba. Se aislaron un total de 674 cepas. La identificación se ejecutó empleando los protocolos convencionales para bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, destacándose *Escherichia coli* con una frecuencia de aislamiento de 24,3%, seguida de *Klebsiellapneumoniae*(21,7%), *Enterobacteraerogenes* (16,4%), *Citrobacter freundii* (12,0%), *Proteus mirabilis* (11,4%); *Enterobacter gergoviae* (4,9%), *Klebsiella ozaenae* (4,5%), *Citrobacter amalonaticus* (3,5%) y *Salmonella enteritidis* (1,3%); la presencia de *S.enteritidis* constituye una alarma en los diferentes municipios donde fue aislada ya que es causante de enfermedades gastrointestinales endémicas que son un problema en la práctica veterinaria y humana, por ocasionar grandes pérdidas, convirtiéndose así en un problema de salud pública y socioeconómico. Los caracoles provenientes del municipio Andrés Mata presentaron mayor porcentaje de enterobacterias (18,2%). La susceptibilidad antimicrobiana se llevó a cabo por el método de difusión en disco. Los antimicrobianos usados en este estudio fueron: aminoglucósidos, cloranfenicol, penicilinas, trimetoprim/sulfametoxazol, tetraciclinas, quinolonas y betalactámicos. Las pruebas de susceptibilidad efectuadas a las especies bacterianas aisladas mostraron altos porcentajes de sensibilidad, sobretodo a los antibióticos carbapenems y cefepime, mientras que las cefalosporinas de tercera generación fueron los antibióticos con mayores porcentajes de resistencia. De acuerdo con lo expresado, se sugiere tomar medidas que contribuyan a minimizar el impacto generado por la dispersión del molusco mediante la implementación de programas de vigilancia, manejo y control del mismo.

**Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6**

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
<b>Crucita Graü de Marín</b>	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input checked="" type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input checked="" type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	<b>4.190.086</b>
	e-mail	<b>crucitagrau@gmail.com</b>
	e-mail	
<b>María Iabichella</b>	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	<b>5.082.666</b>
	e-mail	<b>miabiche00@hotmail.com</b>
	e-mail	
<b>Yasmina Araque</b>	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	<b>8.000.717</b>
	e-mail	<b>Yamasi40@hotmail.com</b>
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2013	03	04

Lenguaje: SPA

**Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6**

Archivo(s):

<b>Nombre de archivo</b>	<b>Tipo MIME</b>
<b>Tesis-yegres.doc</b>	<b>Aplication/word</b>

Alcance:

Espacial: \_\_\_\_\_

Temporal: \_\_\_\_\_

**Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciada en Bioanálisis** \_\_\_\_\_

**Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciada** \_\_\_\_\_

Área de Estudio: Bioanálisis  
\_\_\_\_\_

**Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado: Universidad de Oriente** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano  
**Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ**  
Vicerrector Académico  
Universidad de Oriente  
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **\*SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009\***.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUMPELO  
Secretario




C.C.: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.


JABC/YGC/manuja

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

**Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6**

**Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) : “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.**

  
\_\_\_\_\_  
**Marlin Yegres**

  
\_\_\_\_\_  
**Crucita Graü**  
**Asesor**