

**BACTERIAS ENTERICAS EN EL TRACTO INTESTINAL DE *CANCER PORTERI* (CRUSTACEA, BRACHYURA).**

Verónica Godoy\*, P. García-Tello\* y James P. Robeson\*

**ABSTRACT.** Enteric bacteria in the intestinal tract of *Cancer porteri* (Crustacea, Brachyura).

The intestinal tract of the crab *Cancer porteri*, that inhabits the coastal environment in the Bay of Valparaíso, Chile, contains Enterobacteriaceae together with marine bacteria. The predominant allochthonous enterobacterial genera found were *Proteus* and *Escherichia*.

Key words: Bacteria, Crustacea, Chile.

**INTRODUCCION**

En el ambiente marino se da la acumulación de bacterias viables en diversos habitats entre los que se incluyen en el cuerpo de peces (Ruby & Morin 1979, García Tello & Robeson 1984), crustáceos como *Callinectes sapidus* (Davis & Sizemore 1982) y otros invertebrados (Sochard et al. 1979).

En nuestro ambiente la jaiba *Cancer porteri* es un componente importante de la fauna costera en la bahía de Valparaíso (Retamal 1981). Este habitat se caracteriza por sus altos niveles de contaminación fecal debido a descargas

de aguas servidas al mar (Zahr 1983; Campos et al., 1988). Por lo tanto, pensamos que *C. porteri* podría concentrar bacterias no marinas que entran a la bahía por vía de influjos contaminados. En este contexto hay que destacar que algunas de estas bacterias pueden presentar potencial patogénico y, por otra parte, que *C. porteri* es un crustáceo comestible, lo que involucraría un riesgo sanitario.

En base a los antecedentes antes planteados, en este trabajo nos propusimos como objetivo examinar la flora

\* Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso. Casilla 4059, Valparaíso, Chile.

bacteriana asociada al tracto Intestinal de *C. porteri*, enfocando la aten-

ción en bacterias no marinas.

## MATERIAL Y METODOS

Cincuenta especímenes de *C. porteri* fueron capturados a 500 m de la costa y 50 m de profundidad, transportados al laboratorio y procesados dentro de 3 horas después de recolectados. Los animales estaban vivos al momento del muestreo y aislamiento de bacterias. Una cantidad de 0.25 ml de fluido Intestinal de cada espécimen fue obtenida asépticamente por el orificio anal usando una jeringa estéril desechable (Terumo, Japón). Se determinó el pH y la muestra fue diluida en suero tampinado con gelatina (Gerhardt et al. 1981, p. 263) y homogenizada.

Las diluciones fueron plaqueadas en agar TY que contenía (g/l): triptona, 10; extracto de levadura, 5; agar-agar, 15. Todos los componentes eran de Difco Laboratories (Michigan, USA). Las pla-

cas fueron incubadas a 37°C por 48 horas y las colonias que se desarrollaron fueron purificadas en el mismo medio de cultivo. También se inocularon muestras en placas de agar YEA (Baumann & Baumann 1981) las cuales fueron incubadas a 18°C por 7 días.

Las pruebas de caracterización bioquímica de las cepas bacterianas se realizó según el "Manual of Methods for General Bacteriology" (Gerhardt et al. 1981, p. 409). Las Enterobacteriaceae fueron identificadas según Edwards y Ewing (1972) y las formas bacterianas marinas caracterizadas parcialmente de acuerdo a lo descrito por Shewan et al. (1960). La viabilidad de las bacterias en los fluidos intestinales fue estimada por el método del INT (Zimmermann et al. (1978).

## RESULTADOS

En un examen inicial encontramos bacterias viables (alrededor de  $10^6$  a  $10^7$  bacterias/ml) en todos los contenidos intestinales de *C. porteri* que analizamos. Los fluidos intestinales tenían un pH de 6,8-7,0.

A continuación investigamos la naturaleza de las bacterias en los contenidos intestinales. Nuestros resultados

se encuentran resumidos en la Tabla 1.

También encontramos bacterias marinas típicas en los fluidos intestinales examinados; de 49 cepas independientes obtenidas de placas de agar YEA cerca del 40% eran *Vibrios* marinos. Otros géneros que encontramos eran *Pseudomonas* y *Aeromonas*.

Tabla 1. Abundancia relativa y algunas características genéticas de Enterobacteriaceae presentes en contenidos intestinales de *Cancer porteri*.

Género	Abundancia relativa (%) (n= 31)	DNA plasmidial <sup>b</sup>	Resistencia de antibióticos <sup>d</sup>
<i>Proteus</i>	38,7	- (0/12) <sup>c</sup>	-
<i>Escherichia</i>	19,4	+ (1/6)	-
<i>Enterobacter</i>	16,1	+ (2/5)	+ (Ap; Ap, Tc)
<i>Citrobacter</i>	9,7	+ (1/3)	-
<i>Klebsiella</i>	6,5	- (0/2)	-
Otros <sup>a</sup>	9,6	- (0/3)	-

a Arizona, *Morganella* y *Providencia*.

b Determinado según Kado y Liu (1981). Presencia (+) o ausencia (-) de DNA plasmidial en las cepas bacterianas analizadas.

c Número de cepas que contenían DNA plasmidial/número de cepas analizadas por presencia de DNA plasmidial y resistencia a antibióticos.

d Presencia (+) o ausencia (-) de cepas resistentes a uno o más de los siguientes antibióticos (mcg/ml): ampicilina (Ap; 25), tetraciclina (Tc; 20), cloranfenicol (25), Kanamicina (25), estreptomycin (25), y ácido nalidíxico (50), todos obtenidos de Sigma (U.S.A.).

La resistencia fué determinada inoculando cultivos en crecimiento exponencial sobre placas de agar TY suplementadas con el antibiótico correspondiente.

## DISCUSION

Nuestros resultados indican que el biotopo intestinal de *C. porteri* contiene un número significativo de bacterias viables. Pensamos que el alto número de bacterias presentes en los contenidos intestinales de *C. porteri* reflejan la abundancia en el ambiente del crustáceo, de materia orgánica y microorganismos de los cuales *C. porteri* se alimenta.

Más aún, las enterobacterias presentes en los contenidos intestinales derivarían de la contaminación bacteriana de la bahía de Valparaíso descrita por Zahr (1983) y Campos et al. (1988) quienes encontraron que *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Escherichia* y *Klebsiella* eran las enterobacterias prevalentes en este ambiente costero.

Notamos que el género enterobacteriano más frecuentemente encontrado en contenidos intestinales de *C. porteri* fue *Proteus*. Este hecho sugiere que estas bacterias se acumulan selectivamente en el tracto digestivo de *C. porteri*.

Como era de esperar, también se encontraron bacterias marinas en los contenidos intestinales analizados; los vibrios eran predominantes, una situación que ha sido descrita para otros animales marinos (Ruby & Morín 1979, García-Tello & Robeson 1984, Ohwada et al. 1980). Por consiguiente, bacterias no marinas y marinas coexisten en el tracto intestinal de *C. porteri*. Es más, algunas de las enterobacterias contenían DNA plasmidial y exhibían resistencia a antibióticos (Tabla 1). Esta situación podría conducir a intercambio génico entre poblaciones bacterianas autóctonas y marinas, considerando que la transferencia plasmidial de *Escherichia coli* a vibrios marinos es factible (Patt et al. 1972).

Finalmente, el riesgo sanitario que involucra la presencia de bacterias potencialmente patógenas en asociación con un crustáceo de consumo humano indica la necesidad de desarrollar sistemas eficientes de tratamiento de aguas residuales en nuestro país.

AGRADECIMIENTOS. Agradecemos al Sr. Alejandro Joyas, Laboratorio de Microbiología Clínica, Hospital Dr. Gustavo Fricke, Viña del Mar por su ayuda en la identificación de géneros enterobacteriales, al Dr. Reinhardt Zimmermann por revisar el manuscrito y a la Dirección General de Investigación, Universidad Católica de Valparaíso, por el financiamiento otorgado.

## LITERATURA CITADA

- Baumann, P. & L. Baumann. 1981. The marine gramnegative eubacteria: genera *Photobacterium*, *Beneckea*, *Alteromonas*, *Pseudomonas*, and *Alcaligenes*. pp. 1302-1331. In: Starr, M.P., H. Stolp, H.G. Truper, A. Balows, & H.G. Schlegel, (Eds), *The Prokaryotes*, Vol. 2. Springer-Verlag, Berlin.
- Campos, V., H. Pinochet, I. De Gregori, F. Lund, M. Zahr, D. Delgado, X. Sepúlveda, A. Joyas & L. Arismendi. 1988. Estudios sobre contaminación del agua en la bahía de Valparaíso. *Boletín Micológico* (en prensa).
- Davis, W.J., & R.K. Sizemore. 1982. Incidence of *Vibrio* species associated with blue crabs (*Callinectes sapidus*) collected from Galveston Bay, Texas. *Applied Environmental Microbiology*, 43: 1092-1097.
- Edwards, P.R. & W.H. Ewing. 1972. Identification of Enterobacteriaceae. Burgess Publishing Company. Minneapolis.
- García-Jello, P. & J.P. Robeson. 1984. Presencia y homogeneidad bioquímica del "Grupo *Vibrio* intestinal" en el tracto digestivo de *Merluccius gayi*. *Boletín Instituto de Salud Pública, Chile*, 25: 198-201.
- Gerhardt, P., R.G.E. Murray, R.N. Costilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N.R. Krieg & G.B. Phillips (Eds.). 1981. Manual of methods for general bacteriology. American Society for Microbiology, Washington D.C.
- Kado, C.I. & S.I. Liu. 1981. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *Journal of Bacteriology*, 145: 1365-1373.
- Ohwada, K., Tabor, P.S., & R.P. Colwell. 1980. Species composition and barotolerance of gut microflora of deep-sea benthic macrofauna collected at various depths in the Atlantic Ocean. *Applied Environmental Microbiology*, 40: 746-755.
- Patt, I., K. Nealson & C. Eberhard. 1972. Promiscuous transfer of genetic information from non-marine to marine bacteria. *The Biological Bulletin* (Woods Hole, Mass), 143: 173.
- Retamal, M.A. 1981. Catálogo ilustrado de los crustáceos decápodos de Chile. *Gayana*, 44. Universidad de Concepción, Chile.
- Ruby, E.G. & J.G. Morin. 1979. Luminous enteric bacteria of marine fishes: a study of their distribution, densities and dispersion. *Applied Environmental Microbiology*, 38: 406-411.

- Sochard, M.R., D.F. Wilson, B. Austin & R.R. Colwell. 1979. Bacteria associated with the surface and gut of marine copepods. *Applied Environmental Microbiology*, 37: 750-759.
- Zahr, M. 1983. Estudio sobre contaminación microbiológica del agua de la bahía de Valparaíso. Tesis de Licenciatura. Universidad Católica de Valparaíso.
- Zimmermann, R., R. Iturriaga & J. Becker-Birch. 1978. Simultaneous determination of the total number of aquatic bacteria and the number thereof involved in respiration. *Applied Environmental Microbiology*, 36: 926-935.