

Aislamiento de *Plesiomonas shigelloides* y *Aeromonas veronii* biotipo *sobria* en heces de lobo marino común sudamericano, *Otaria flavescens* (Shaw, 1800)

Isolation of *Plesiomonas shigelloides* and *Aeromonas veronii* biotype *sobria* from South American sea lion, *Otaria flavescens* (Shaw, 1800) feces

Mario J. González¹, María P. Villanueva¹, Fadia Latif¹,
Fabiola Fernández¹ y Heriberto Fernández¹

¹Instituto de Microbiología Clínica, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile
hfernand@uach.cl

Abstract. - *Plesiomonas shigelloides* and *Aeromonas* spp. are Gram negative bacteria vastly distributed in the environment, being isolated from aquatic ecosystems and terrestrial and marine animals. The South American sea lion (*Otaria flavescens*) is the most frequent marine mammal of the Chilean coasts, living in beaches, rocks or coastline of rivers. In this work we determined the isolation frequency of *P. shigelloides* and *A. veronii* biotype *sobria* in fecal samples of South American sea lions belonging to a colony established at the urban South coastline of Valdivia River, southern Chile.

From the 30 samples under study, *P. shigelloides* was isolated in 27 (90.0%) and *A. veronii* biotype *sobria* in 17 (56.6%). To our knowledge, this is the first report of the isolation of *P. shigelloides* and *Aeromonas* spp. from South American sea lions in Chile. However, further studies are needed to clarify if these bacteria play any role in producing disease, or are merely commensals, in these marine mammals.

Key words: *Aeromonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, intestinal microbiota, marine mammals, reservoir

Introducción

Plesiomonas shigelloides y *Aeromonas* sp. son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos y oxidasa positivos. El género *Plesiomonas*, con su única especie *P. shigelloides*, sufrió un cambio taxonómico en el año 2001, siendo trasladada desde la familia *Vibrionaceae* a la familia *Enterobacteriaceae* (González-Rey *et al.* 2004). El género *Aeromonas*, con 15 especies reconocidas actualmente, pertenece a la familia *Aeromonadaceae* (Huddleston *et al.* 2006). *P. shigelloides* y *Aeromonas* spp. habitan ecosistemas acuáticos, siendo además, aisladas de una amplia variedad de animales. *Aeromonas* spp. ha sido aislada de peces, moluscos, reptiles, delfines, belugas y lobo marino californiano. *P. shigelloides* ha sido aislada de peces, aves acuáticas (cisnes, cigüeñas, gaviotas), mamíferos terrestres (perros, gatos, zorros) y mamíferos marinos (belugas y lobo marino californiano) (Sugita *et al.* 1995, Rahman *et al.* 2002, González-Rey *et al.* 2004, Moreno *et al.* 2006, Pereira *et al.* 2004, Higgins 2000, Johnson *et al.* 2006).

El lobo marino común sudamericano (*Otaria flavescens* Shaw, 1800) es el mamífero marino más frecuente en las costas chilenas. Su distribución geográfica es amplia y comprende desde el norte del Perú

hasta el Cabo de Hornos por el lado del Océano Pacífico y alcanzando, por el Océano Atlántico, hasta el sur de Brasil (Sielfeld 1999). Esta especie se congrega en sitios costeros denominados loberas, las cuales pueden estar ubicadas en farellones, requeríos o playas. Su alimentación consiste en peces, crustáceos y moluscos, los que son obtenidos directamente del ecosistema marino. Algunas poblaciones de lobos marinos pueden establecer una interacción con el hombre, compitiendo directamente por el recurso o alimentarse de los desechos que el hombre no utiliza (Pavés *et al.* 2005, Sielfeld 1999). El ingreso del lobo marino común al río Valdivia y sus afluentes (39°47'S, 73°15'W) fue documentado científicamente en 1976 y la penetración de este animal a este sistema fluvial obedecería a la búsqueda de alimento (Schlatter 1976).

El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de *P. shigelloides* y *Aeromonas* spp. en heces del lobo marino común sudamericano establecido en la parte urbana de la ribera sur del río Valdivia, Chile.

Material y métodos

Se estudió una colonia de lobos marinos constituida por 38 ejemplares, situada en la ribera del río Valdivia. Desde

el sitio de descanso de los animales, fueron recolectadas 30 muestras fecales en recipientes estériles y remitidas al laboratorio para análisis bacteriológico. Se tomaron 5 g de heces de cada muestra y se depositaron en frascos con 50 ml de agua peptonada alcalina (APA), pH 8,6 (caldo de enriquecimiento) y se incubaron a 37°C por 6 h. Posteriormente, alícuotas del caldo de enriquecimiento fueron sembradas en placas de agar sangre ampicilina (10 µg mL⁻¹), agar sangre y agar Mc Conkey, las cuales fueron incubadas a 37°C por 24 h. A las colonias sospechosas de *Aeromonas* sp. se les realizó la prueba de oxidasa, producción de ácido a partir de carbohidratos (arabinosa, lactosa, sacarosa, manitol, inositol, salicina), descarboxilación de lisina y ornitina, arginina dihidrolasa, hidrólisis de esculina, indol, susceptibilidad a cefalotina, ampicilina y susceptibilidad al agente vibriostático O/129 (10 µg y 150 µg) (Castro-Escarpulli *et al.* 2003). Para *P. shigelloides* se realizó la prueba de oxidasa, fermentación de la glucosa, crecimiento en NaCl al 3% y al 6%, susceptibilidad al agente vibriostático O/129 (10 µg y 150 µg) y producción de ácido a partir de inositol (Castro-Escarpulli *et al.* 2003).

Resultados y discusión

La Tabla 1 indica que de las 30 muestras recolectadas, 27 (90,0%) fueron positivas para *P. shigelloides* y 17 (56,6%) para *A. veronii* biotipo *sobria*. En la literatura no existen estudios relacionados con la microbiota intestinal del lobo marino común sudamericano en su medio natural. Sugita *et al.* (1996) caracterizaron la microbiota intestinal de cinco ejemplares de lobo común sudamericano confinados en el 'Enoshima Aquarium', localizado en Kanagawa, Japón, aislando *Aeromonas* spp. en los cinco ejemplares, sin establecer la identificación a nivel de especie, no obstante *P. shigelloides* no fue aislada de estos ejemplares.

La microbiota del lobo marino californiano (*Zalophus californianus*) ha sido estudiada con más detalle. Hernández-Castro *et al.* (2005) caracterizaron la

microbiota aeróbica de la cavidad nasal de 57 crías de lobo marino californiano, aislando *Aeromonas* spp. en una muestra (1,75%). Por otro lado, Johnson *et al.* (2006) realizaron un estudio sobre la microbiota aeróbica de prepucio y vagina de la misma especie de lobo marino, en animales salvajes y en animales enfermos mantenidos en cautiverio. Considerando los dos grupos de animales bajo estudio, adultos en estado salvaje (n=65) y en cautiverio (n=35), *P. shigelloides* fue aislada solamente en una muestra (1,5%) del primer grupo. En el segundo grupo, *Aeromonas* spp. fue aislada en cuatro muestras (11,4%) y *A. hydrophila* en tres (8,6%).

En los estudios anteriormente señalados, el porcentaje de aislamiento *P. shigelloides* y de *Aeromonas* spp. fue menor en comparación a nuestros resultados, donde alcanzó al 90,0% y el 56,6% respectivamente de las muestras estudiadas. Por otro lado, *A. veronii* biotipo *sobria* no fue aislada de los ejemplares de lobo californiano estudiados (Hernández-Castro *et al.* 2005, Johnson *et al.* 2006). La permanencia de los lobos marinos en las riberas del río Valdivia, podría haber favorecido la proliferación de *A. veronii* biotipo *sobria* y *P. shigelloides*, ya que el río representaría un hábitat adecuado para estas bacterias (González-Rey *et al.* 2004, Huddleston *et al.* 2006). Otra ruta de transmisión y posterior colonización, sería el consumo de los desechos de pescados y mariscos, los cuales son eliminados de una feria libre (Moreno *et al.* 2006). Para establecer fehacientemente si estas especies bacterianas formarían parte de la microbiota de *O. flavescens*, es necesario realizar estudios longitudinales en colonias de mayor tamaño, establecidas en sitios alejados de la actividad humana. Al estudiar la microbiota de colonias no relacionadas con las actividades humanas, se podría obtener información para comparar y esclarecer si estas bacterias, como las encontradas en nuestro estudio, son transmitidas por el contacto con el medio acuático (río) y/o la ingesta de productos del mar contaminados.

Tabla 1

Frecuencia de aislamiento de *Plesiomonas shigelloides* y *Aeromonas veronii* biotipo *sobria* de heces de lobo marino común sudamericano (*O. flavescens*)

Isolation of *Plesiomonas shigelloides* and *Aeromonas veronii* biotype *sobria* from feces of South American sea lion (*O. flavescens*)

Especie	N° muestras estudiadas / N° muestras positivas	%
<i>P. shigelloides</i>	30/27	90,0
<i>A. veronii</i> biotipo <i>sobria</i>	30/17	56,6

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el proyecto DID-UACH S-2007-37.

Literatura citada

- Castro-Escarpulli G, MG Aguilera-Arreola, CH Hernández-Rodríguez, RI Arteaga-Girabay, AA Carmona-Martínez, A Pérez-Valdespino, S Giorgio-Cerezo, MJ Figueras & G Aparicio. 2003. La identificación genética de *Aeromonas*, una realidad y una necesidad para la microbiología diagnóstica. *Bioquímica* 28(4): 11-18.
- González-Rey C, S Svenson, L Bravo, A Siitonen, V Pasquale, S Dumontet, I Ciznar & K Krovacek. 2004. Serotypes and anti-microbial susceptibility of *Plesiomonas shigelloides* isolates from humans, animals and aquatic environments in different countries. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 27: 129-139.
- Hernández-Castro R, L Martínez-Chavarria, A Díaz-Avelar, A Romero-Osorio, C Godínez-Reyes, A Zavala-González & A Verdugo-Rodríguez. 2005. Aerobic bacterial of the nasal cavity in gulf of California sea lion (*Zalophus californianus*) pups. *Veterinary Journal* 170: 359-363.
- Higgins R. 2000. Bacteria and Fungi of marine mammals: A review. *Canadian Veterinary Journal* 41: 105-116.
- Huddleston J, J Zak & R Jeter. 2006. Antimicrobial susceptibilities of *Aeromonas* spp. isolates from environmental sources. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 7036-7042.
- Johnson S, L Lowenstine, F Gulland, S Jang, D Imai, F Almy, R DeLong & I Gardner. 2006. Aerobic bacterial flora of the vagina and prepuce of California sea lions (*Zalophus californianus*) and investigation of associations with urogenital carcinoma. *Veterinary Microbiology* 114: 94-103.
- Moreno M, L Medina, J Álvarez, J Obregón & G Medina. 2006. Detección de *Plesiomonas shigelloides* mediante la PCR en tilapias silvestres (*Oreochromis mossambicus*) y cultivadas (Tetrahibrido *O. mossambicus* x *O. urolepis hornorum* x *O. niloticus* x *O. aureus*) en Venezuela. *Revista Científica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia* 16(5): 459-465.
- Pavés H, R Schlatter & C Espinoza. 2005. Patrones reproductivos del lobo marino común, *Otaria flavescens* (Shaw 1800), en el centro-sur de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 78: 687-700.
- Pereira C, C Possas, C Viana & D Rodrigues. 2004. *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas shigelloides* aisladas a partir de mexilhões (*Perna perna*) in natura e pré-cozidos no Rio de Janeiro, RJ. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas* 24(4): 562-566.
- Rahman M, P Colque-Navarro, I Kühn, G Huys, J Swings & R Möllby. 2002. Identification and characterization of pathogenic *Aeromonas veronii* biovar *Sobria* associated with epizootic ulcerative syndrome in fish in Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 650-655.
- Schlatter R. 1976. Penetración del lobo marino común, *Otaria flavescens* Shaw, en el río Valdivia y afluentes. *Medio Ambiente* 2(1): 86-90.
- Sielfeld W. 1999. Estado del conocimiento sobre conservación y preservación de *Otaria flavescens* (Shaw, 1800) y *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1783) en las costas de Chile. *Estudios Oceanológicos* 18: 81-96.
- Sugita H, K Tanaka, M Yoshinami & Y Deguchi. 1995. Distribution of *Aeromonas* species in the intestinal tracts of river fish. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 4128-4130.
- Sugita H, Y Takanashi, Y Sasaki, T Nishina, E Aono, A Fujimoto & Y Deguchi. 1996. The intestinal microflora of sea lions reared in a aquarium. *Fisheries Science* 62: 321-322.