

TRANSFERENCIA DE MATERIAL GENÉTICO ENTRE BACTERIAS EN AMBIENTES ACUÁTICOS ¿UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA?

*QBP Juan Manuel Bello López,
M en SP. Elizabeth Fernández Rendón*

*Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias
Biológicas, IPN.
juanmanuelqbp@hotmail.com.*

TRANSFERENCIA DE MATERIAL GENÉTICO ENTRE BACTERIAS EN AMBIENTES ACUÁTICOS ¿UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA?

Resumen:

La transferencia de material genético entre microorganismos de sistemas acuáticos ha tenido un gran interés debido al surgimiento de bacterias multirresistentes a antibióticos. El proceso de conjugación es considerado el principal camino para la transferencia horizontal de genes de resistencia entre bacterias. La transferencia de plásmidos requiere el contacto directo entre célula y célula, lo cual resulta en una transferencia unidireccional del material genético, de la célula donadora a la receptora. Las bacterias que adquieren plásmidos R, pueden infectar al humano, directamente por contacto con el hospedero o a través de su ingesta por lo que el problema va más allá de la acuicultura y se convierte además en un problema de Salud Pública.

Palabras clave: Plásmido / conjugación / genes / antibióticos

TRANSFER OF GENETIC MATERIAL AMONG BACTERIA IN AQUATIC SYSTEMS. A PUBLIC HEALTH PROBLEM?

Abstrac:

The transfer of genetic material among microorganisms of aquatics systems has had a great interest, due to the sprouting of bacteria multiresist to antibiotics. The process of conjugation is considered a major pathway for horizontal transfer of genes of resistance among bacteria. The transfer of plasmids requires cell to cell contact resulting in unidirectional transfer of genetic material from a donor to a recipient cell. The bacteria that acquire R plasmid, they can infect human, directly by contact with the host or through its consumption for which the problem goes beyond the aquaculture and is converted besides in a problem of Public Health.

Keywords: Plasmad / conjugation / genes / antibiotics.

INICIO

Los agentes antimicrobianos se han usado ampliamente en la acuicultura para tratar infecciones debidas a una variedad de patógenos bacterianos de peces incluyendo *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella tarda*, *Pasteurella piscicida*, *Vibrio alguillarum* y *Yersinia ruckeri*. A medida que esta industria se expande surgen preguntas en relación con las consecuencias de esta práctica. Debido a que estos fármacos se administran mezclándolos con el alimento que se dispersa en el agua, dosifican directamente el ambiente, lo que resulta en presiones selectivas en el ecosistema expuesto (World Health Organization, 1999).

El surgimiento de resistencia antimicrobiana después del uso de agentes antimicrobianos en la acuicultura se ha identificado en bacterias que son patógenas de peces y en las que no lo son.

Aeromonas salmonicida es un ejemplo de un patógeno de peces, el cual en muchos países con frecuencia es resistente a múltiples fármacos comúnmente usados en acuicultura. Estos incluyen sulfonamidas, tetraciclina, amoxiciclina, trimetropim-sulfadimetoxina y quinolonas (Dalsgaard et al., 1994; Barnes y Hasting, 1994). Con frecuencia el primer aislamiento de *Aeromonas salmonicida* resistente a un agente antimicrobiano específico se reporta poco después de la introducción del agente en la acuicultura (Zhao & Aoki, 1992).



Fig 1. Microfotografía de *Aeromonas salmonicida*

Muchos determinantes de resistencia en patógenos de peces son portados en plásmidos R transferibles (Watanabe et al., 1977; Aoki, 1997). La diseminación horizontal de plásmidos de resistencia de patógenos de peces puede, por lo tanto transferir genes de resistencia a otras bacterias, incluyendo aquellas que son patógenas de humanos (Aoki, 1997).

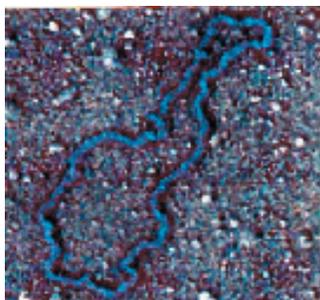


Fig. 2 Plásmido visualizado por microscopía electrónica

Ejemplo de lo anterior son cepas de *Aeromonas salmonicida* aisladas en 1989 de salmones enfermos en piscifactorías, las cuales son resistentes a tetraciclina, trimetotrim y sulfametoxasol (Sorum et al., 2003).

Esto se ha demostrado en bacterias de agua de lagunas de peces (Aoki, 1997) y sedimentos marinos (Stewart & Sinigalliano, 1999). Los plásmidos que portan determinantes de resistencia también se han transferido *in vitro* de patógenos de peces a patógenos de humanos tales como *Vibrio cholerae* (Nakjima et al., 1983), *V. parahaemolyticus* (Hayashi et al., 1982), *Escherichia coli* (Sandaa et al., 1992), *Aeromonas spp.* y *Streptococcus iniae* (Weinstein et al., 1997). Además como los plásmidos que portan determinantes de resistencia antimicrobiana múltiple se han transferido en microambientes, entre patógenos bacterianos de peces, humanos y otros animales (Kruse & Sorum, 1994).

El proceso de conjugación es considerado el principal camino para la transferencia horizontal de genes de resistencia entre bacterias. La conjugación la transferencia de material genético extracromosomal requiere el contacto directo entre célula y célula, lo cual resulta en una transferencia unidireccional del material genético, de la célula donadora a la receptora. Esto está mediado por plásmidos conjugativos, aunque los transposones también son capaces de desencadenar procesos de conjugación (Dionisio, 2002).

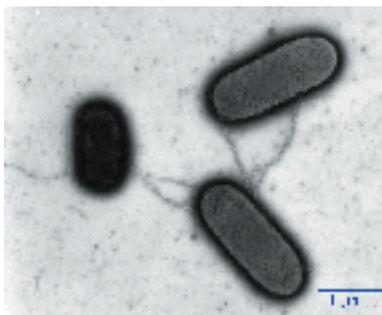


Fig. 3 Conjugación bacteriana

Se han realizado varios intentos para demostrar que el proceso de conjugación se puede llevar a cabo con éxito en varios microambientes, entre bacterias que son autóctonas de ese ambiente y en las que no lo son (Cuadro 1).

Las bacterias que han adquirido plásmidos R, pueden infectar al humano, directamente por contacto directo con el hospedero o a través de su ingesta por lo que el problema va más allá de la acuicultura y se convierte además en un problema de Salud Pública. (Negrete, 2004).

Los humanos expuestos a los ambientes acuícolas pueden infectarse por bacterias de diferentes maneras. Por ejemplo *Vibrio spp.*, parte de la flora marina normal, pueden causar infecciones en heridas en personas con cortadas abiertas o abrasiones expuestas al agua o vida marina (Blake et al., 1979). Las bacterias del ecosistema de acuicultura también pueden transmitirse de manera directa a los humanos mediante manipulación de los peces.

La aparición de resistencia a antibióticos en bacterias, además de ser un problema biológico, es sin lugar a dudas un problema médico, social, económico y ético, dado que las infecciones producidas por estas bacterias resistentes a los antibióticos tienen mayor morbilidad y mortalidad (Cosgrove et al., 2002; Mosdell et al., 1991).

Cuadro 1. Ejemplos de microorganismos implicados en procesos de conjugación in situ o in vivo.

MICROORGANISMOS IMPLICADOS EN LA CONJUGACION		MICROAMBIENTE	REFERENCIA
DONADOR	RECEPTOR		
<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	Materia fecal	Balis et al., 1996.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Intestino de cerdo	Roberts & Falkow, 1979.
<i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i> , <i>Escherichia coli</i>	Agua reciclada	Match & Grimes, 1982.
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	Intestino humano	Petrocheilou et al., 1976.
<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Vibrio fischeri</i>	Microcosmos acuático	Dahlberg et al., 1998.
<i>Salmonella enterica</i>	<i>Salmonella entérica</i>	Líneas celulares eucarióticas	Ferguson et al., 2002.
<i>Escherichia coli</i>	<i>Alcaligenes eutrophus</i>	Suelo	Top et al., 1990.
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	Moco intestinal	Licht et al., 1999
<i>Streptococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	Placa dental	Ellen & Otoole, 2000.
<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agua de río	Bale et al., 1988.
<i>Escherichia coli</i>	<i>Vibrio spp.</i>	Medio oligotrófico	Goodman et al., 1993.
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	Tracto gastrointestinal	Netherwood et al., 1999.
<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella flexneri</i>	Tracto urinario	Taure et al., 1989.
<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	Intestino humano	Balis et al., 1996
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Bifidobacterium spp.</i> , <i>Peptotryptococcus spp.</i>	Intestino de ratón	Gruzza et al., 1994.
Bacterias intestinales de humano, rata y cerdo	<i>Escherichia coli</i>	Intestino de rata	Nijsten et al., 1995.
<i>Klebsiella spp.</i>	<i>Klebsiella spp.</i>	Intestino humano	Prodinger et al., 1996.
<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Shigella flexneri</i>	Intestino humano	Bratsoeva & John, 1994.
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	Carne de pescado y rúmen de carnero	Scott & Flint, 1995.
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Intestino de larvas de lepidópteros	Jarret & Stephenson, 1990.

<i>Enterobacter cloace</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	Estomago de insectos	Amstrong et al., 1990.
<i>Mesorhizobium loti</i>	<i>Mesorhizobium loti</i>	Suelo rizosférico	Sullivan & Jonson, 1998
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	Larva de gusano de seda	Watanabe & Sato, 1998
<i>Pseudomonas syringae</i>	<i>Erwinia amylovora</i>	Hojas de pera	Lacy et al., 1984

Esta información demuestra que el uso de agentes antimicrobianos en la acuicultura ha seleccionado resistencias entre bacterias en los ecosistemas expuestos. Esta resistencia puede diseminarse al medio ambiente y transmitirse a una variedad de especies bacterianas, incluyendo bacterias que pueden infectar a humanos (Angulo, 2000).

Las evidencias experimentales y epidemiológicas indican claramente que la fuerza motriz del proceso evolutivo hacia la resistencia bacteriana a antibióticos, es el uso y consumo de estas sustancias farmacológicas y sin este consumo y la presencia de estas sustancias en el ambiente la resistencia bacteriana dejaría de existir (Shnayerson & Plotkin, 2002; Levy, 2001; Teuber, 2001; Gorbach, 2001).

La acuicultura es una actividad industrial relativamente nueva y en ella, al igual que en la ganadería y en la avicultura, el empleo de antibióticos como profilácticos es probablemente lo que demanda su consumo y uso en la industria (Cabello, 2003; Angulo, 2000; Alderman & Hastings, 1998; Goldberg, 2001).

Estudios recientes han mostrado claramente que tanto en ganadería como en acuicultura el uso profiláctico de antibióticos puede ser reemplazado por medidas de higiene, sin repercusiones para la salud animal y la economía de la industria, demostrando que este uso profiláctico de antibióticos es innecesario y totalmente prescindible (Dowling, 2000; Levy, 2001; Gorbach, 2001; Sorum & L'Abée-lund, 2002).

Está también demostrado que el uso de antibióticos en la acuicultura genera la aparición de bacterias resistentes a los antibióticos en los entornos acuáticos donde se desarrolla esta actividad (Aguero et al., 1984; Sorum & L'Abée-Lund, 2002; Rhodes et al., 2000), y existen evidencias epidemiológicas y moleculares, señalando que los genes que median esta resistencia pueden ser transmitidos de bacterias acuáticas a bacterias capaces de producir infecciones en humanos y en animales terrestres.

Esto indica que los compartimientos acuáticos y terrestres carecen de fronteras respecto del flujo de genes de resistencia a antibióticos (Aguero et al., 1984, Sorum & L'Abée-Lund, 2002; Rhodes et al., 2000) y también que el fenómeno de resistencia es un fenómeno global, ya que el uso de antibióticos en un ambiente tendrá, a lo largo del tiempo, repercusiones en otros ambientes aparentemente lejanos (Shnayerson & Plotkin, 2002; Cabello, 2002; Levy, 2001; Sorum, 1998; Rhodes et al., 2000).

El traslado de peces de ambientes de agua dulce como lagos y ríos a ambientes marinos, crea también las condiciones para la migración de bacterias resistentes a los antibióticos entre estos ambientes (Levy, 2001; Bushman, 2001; Bushman & Pizarro, 2001) y facilitan la diseminación de estas bacterias entre nichos ecológicos geográficamente lejanos (Shnayerson & Plotkin, 2002; Levy, 2001; Bushman, 2001; Bushman & Pizarro, 2001).

Esta resistencia se manifiesta con el mero uso de antimicrobianos, pero claramente se acelera e intensifica con el mal uso y abuso de antibióticos, cuando se exponen bacterias a estos agentes en forma innecesaria, prolongadamente o en dosis subterapéuticas, con lo que se desencadenan los mecanismos genéticos inductores de resistencia y se traspasan estas propiedades entre las bacterias (American Academy Of Microbiology, 2002).

PROBLEMÁTICA EN LA ACUICULTURA

Una granja acuícola está conformada por tres importantes tipos de ingresos: el agua, el alimento y los organismos para cultivar. Desde un enfoque sanitario, estos elementos son de importancia, ya que con ellos ingresan al sistema diferentes elementos como contaminantes y microorganismos que perturban las condiciones sanitarias de manejo y alteran el equilibrio salud-enfermedad en el sistema y como consecuencia la enfermedad infecciosa puede instalarse.

Para evitarlo, y creyendo que la mejor estrategia es la prevención, se ha usado indiscriminadamente la aplicación de químicos y antibióticos para el control de las infecciones, los cuales son administrados rutinariamente e incorporados en el alimento (Davis & Hayasaka, 1983; Mandingan *et al.*, 2000) o son administrados directamente dentro de los estanques de cultivo, desconociendo si existe el estado de enfermedad infecciosa, la especie de bacteria que ha infectado la producción, para el caso que así sea, el tipo de antibiótico adecuado para destruir la bacteria específica y la dosificación necesaria.

Los antibióticos son utilizados en diversas formas en la acuicultura:

- Metafilaxia:

Es una forma de uso que implica el control de ciertas variables clínicas de grupos de animales por ejemplo la temperatura para así evitar la implantación de microorganismos capaces de inducir enfermedad.

- Profilaxia:

Su uso está dirigido a prevenir infecciones en poblaciones de animales altamente susceptibles a la infección debido a perturbaciones inmunológicas producidas por el hacinamiento, las manipulaciones y problemas dietéticos creados por su crianza en un sistema industrial (Angulo, 2000; Alderman & Hastings, 1998; Gorbach, 2001; Sorum & L'Abée-lund, 2001).

- Promoción del crecimiento:

Esto es dado a que concentraciones subterapéuticas por mecanismos no bien esclarecidos son capaces de inducir el crecimiento del animal. Ejemplos de antibióticos utilizados para tal propósito son: Bacitracina, Tetraciclina, Monencina, Tilosina (Errecalde, 2004; Kirkpatrick, 2002).

El uso rutinario de esta práctica por parte de los acuicultores, con el objetivo de resolver el problema de enfermedades infecciosas en sus granjas acuícolas, ha resultado en un incremento de la presencia de plásmidos que confieren resistencia en diferentes especies de bacterias patógenas de peces (Bast *et al.*, 1988).

En algunos países como Estados Unidos de América y algunos europeos este problema se ha notificado (Son *et al.*, 1997) sin embargo, en México varios piscicultores estudiados, cuyo primer y más importante ingreso económico proviene de estas pequeñas granjas rústicas, al tratar de prevenir y controlar las enfermedades infecciosas dentro de sus instalaciones, han iniciado el uso desmedido de antibióticos incorporados a los alimentos suministrado rutinariamente a los peces.

IMPORTANCIA DEL ESTUDIO DE LA TRANSFERENCIA DE MATERIAL GENÉTICO EN AMBIENTES ACUÁTICOS

Varias razones de interés sanitario y ecológico, marcan la importancia de estudiar y cuantificar el proceso de transferencia de plásmidos en sistemas acuáticos. Primero, algunos autores han demostrado que la capacidad de transferir plásmidos por conjugación entre bacterias de origen acuático bajo condiciones estandarizadas de laboratorio se realiza con éxito (Fernández, 1992; Sandt, 1991; Trevors, 1986) y en condiciones *in vivo* o *in situ* (Altherr, 1986; Bale, 1988; Fernández, 1992; Gowland, 1984; O'Morchoe, 1984).

Segundo, en sistemas acuáticos ha habido un incremento en el número de bacterias que poseen plásmidos R conjugativos (Bell, 1980; Niemi, 1983) y por consiguiente pueden ser considerados como potenciales donadores. Una tercera razón, es el notable incremento en el uso de microorganismos genéticamente modificados en actividades tales como, producción de alimentos, agricultura, biocontrol de insectos y enfermedades, lixiviación de minerales y metales pesados (Halvorson 1985) lo que representa un riesgo si existe su liberación accidental.

Por otro lado, las frecuencias de transferencia calculadas en sistemas acuáticos son generalmente bajas que las observadas en laboratorio (Jones, 1991). Sin embargo se conoce muy poco acerca del mecanismo que promueve o impide la transferencia natural de plásmidos en sistema acuáticos. Es un fenómeno complejo, por ser muy difícil de estudiar, pero principalmente por el gran número de factores que pueden influenciar en los resultados obtenidos, tales como carbono orgánico total, pH, temperatura, tiempo de incubación y densidad celular (Fernández, 1992; Sandt, 1991).

BIBLIOGRAFÍA

- AGUERO M. E., A. G. Deluca, K. N. Timmis, F. C. Cabello. 1984. A Plasmid-encoded Outer Membrane Protein TraT, Enhances Resistance of *Escherichia coli* to Phagocytosis. *Infect. Immun.* 46: 740-746.
- ALDERMAN D. J. and T. S. Hastings. 1998. Antibiotic Use in Aquaculture: Development of Antibiotic Resistance, Potential for Consumer Health Risks. *Int. J. Food Sci. Technol.* 33: 139-55.
- Altherr, M. R., and K. L. Kasweck. 1982. In situ studies with membrane diffusion chambers of antibiotic resistance transfer in *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 44:838-843.
- ALTWEEG G. M., H. K. Geiss. 1989. *Aeromonas* as a Human Pathogen. *Crit. Rev. Microbiol.* 16:253-286.
- AMERICAN ACADEMY OF MICROBIOLOGY. 2002. Antibiotic Resistance: an Ecological Perspective. *American Society for Microbiology.*
- ANGULO F. 2000. Antimicrobial Agents in Aquaculture: Potential Impact on Public Health. *APUA. Newslett.* 18: 14-15.
- AOKI T. 1997. Resistance Plasmids and the Risk of Transfer In: Bernoth E. M., editor. Furunculosis: Multidisciplinary fish Disease Research. London: Academic Press. 433-440.
- ARMSTRONG J. L., N. D. wood and L. A. Porteous. 1990. Transconjugation Between Bacteria in the Digestive Tract of the Cutworm *Peridroma Saucia*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1492 – 1493.
- Bale MJ, Day MJ, Fry JC. 1988 Novel method for studying plasmid transfer in undisturbed river epilithon. *Appl Environ Microbiol.* 54:2756-8
- Bale, M. J., J. C. Fry, and M. J. Day. 1988. Transfer and occurrence of large mercury resistance plasmids in river epilithon. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:972-978.
- BALIS E., A. C. vatopoulos , M. Kanelopoulou , E. Mainas , G. Hatzoudis , V. Kontogianni , H. malamou-lada , S. Kitsou-Kiriakopoulou , V. Kalapothaki . 1996. Indications of in Vivo Transfer of an Epidemic R Plasmid from *Salmonella enteritidis* to *Escherichia coli* of the Normal Human Gut Flora. *J Clin Microbiol.* 34(4):977-979.
- Barnes A. C., T. S. Hasting, G. B. 1994. *J. Fish Diseases.* 17:357-363
- BAST L., F. G. Daly., S. A. DE Grandis, R. M. Stevenson. 1988. Evaluation of Profiles of *Aeromonas salmonicida* Epidemiological Markers of Furunculosis Infection in Fish. *J. Fish Dis.* 11:133-145.
- Bell, J. B., W. R. Macrae, and G. E. Elliot. 1980. Incidence of R factors in coliform, fecal coliform, and Salmonella populations of the Red River in Canada. *Appl. Environ. Microbiol.* 40:486-491.
- BERNOTH EM, Korting W. Identification of a Cyprinid Fish, the Tench Tinca L., as a Carrier of the Bacterium *Aeromonas*.
- BLAKE P. A., M. H. Merson , R. E. Weaver , D. G. Hollis , P. C. Heublein . 1979. Disease Caused by a Marine *Vibrio*. Clinical Characteristics and Epidemiology. *N. Engl. J. Med.* Jan 4; 300(1):1-5.
- BOOMKER J., Henton M. M., Naude T. W., Hunchzermeyer F. W. 1984. Furunculosis in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Raised in Sea Water. Onderstepoort. *J. Vet. Res.* 51(2):91-4.

BRATOEVA M. P., John J. F. J.R. 1994. *In vivo* R-plasmid Transfer in a Patient With a Mixed Infection of *Shigella dysentery*. *Epidemiol Infect.* 112(2):247-252.

BUSHMAN A, R. Pizarro. 2001. El Costo Ambiental de la Salmonicultura en Chile. *Terram Publicaciones. Análisis de Políticas Públicas* Santiago, Chile - N° 5.

BUSHMAN A. 2001. Impacto de la Acuicultura: El Estado del Conocimiento en Chile y el Mundo. *Terram Publicaciones, Políticas Públicas*. Santiago, Chile.

BYERS H. K., R. C. Cipriano, N. Gudkovs, M. S. Cranel. 2002. PCR-based Assays for the Fish pathogen *Aeromonas salmonicida*. II. Further Evaluation and Validation of Three PCR Primer Sets With Infected Fish. *Dis Aquat Organ.* May 10; 49(2):139-44.

CABELLO F. C. 2003 Antibióticos y Acuicultura. Un Análisis de sus Potenciales Impactos para el Medio Ambiente y la Salud Humana y Animal en Chile. *Análisis de Políticas Públicas*. Organización Terram, Publicación N° 1.

COSGROVE S. E., K. S. Saye, G. M. Eliopoulos and Y. Carmeli. 2002. Health and Economic Outcomes of the Emergence of Third Generation Cephalosporin Resistance in *Enterobacter* species. *Arch. Intern. Med.*; 162: 185-90.

DAHLBERG C., M. Bergstrom AND M. Hermansson. 1998. *In Situ* Detection of High Levels of Horizontal Plasmid Transfer in Marine Bacterial Communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:2670 – 2675.

DALSGAARD I., B. Nielsen , J. L. Larsen. 1994. Characterization of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*: a Comparative Study of Strains of Different Geographic Origin *J. Appl. Bacteriol.*77(1):21-30.

DAVIS J. F., S. S. Hayasaka. 1983. Pathogenesis Bacteria Associated with Cultured American Eels. *J. Fish Biol.* 23:557 – 564.

DEL CERRO A., I. Marquez, Guijarro J. A. 2002. Simultaneous detection of *Aeromonas salmonicida*, *Flavobacterium psychrophilum*, and *Yersinia ruckeri*, three Major Fish Pathogens, by Multiplex PCR. *Appl Environ. Microbiol.* 68(10):5177-80.

DIONICIO F., I. Matic, M. Radman, O.R. Rodrigues and F. Taddel. 2002. Plasmid Spread Very Fast in Heterogeneous Bacterial Communities. *Genetics.* 162:1525-1532.

DOWLING H. F. 2000. Fighting Infection. Conquests of the Twentieth Century. *Harvard University Press*. Cambridge. MA. *Environ. Microbiol.* 67:5675-5682.

ELLEN D.M and G.A. O'toole. 2000. *Microbial biofilms: from Ecology to Molecular Genetics*. *Microbiol Mol. Biol.* 64:847-867.

ERRECALDE J.O. 2004. Uso de Antimicrobianos en Animales de Consumo. Incidencia del Desarrollo de Resistencias en Salud Pública. ONU. FAO. Producción y Salud Animal. Cap. 162: 31-32.

FERGUSON G. C., J. A. Heinemann and M. A. Kennedy. 2002. Gene Transfer Between *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium inside Epithelial Cells. *J. Bacteriol.* 184: 2235 – 2242.

Fernández - Astorga, A., A. Muela, R. Cisterna, J. Iriberry, and I. Barcina. 1992. Biotic and abiotic factors affecting plasmid transfer in *Escherichia coli* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:392-398.

GOLDBERG R. J., M. S. Elliott, R. L. Naylor. 2001. Marine Aquaculture in the United States. Environmental Impacts and Policy Options. Pew Oceans Commission. *Arlington, Virginia.* 1-33.

GÓMEZ-Campdera J., P. Muñoz, F. López-PRIETO, R. RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, M. ROBELES, M. RODRÍGUEZ-CREIXEMS, E. BOUZA SANTIAGO. 1995. Gastroenteritis por *Aeromonas* en pediatría. *An. Esp. Pediatr.* 44:548-552.

GOODMAN A. E., E. Hild, K. C. Marshall and M. Hermansson. 1993. Conjugative Plasmid Transfer between Bacteria under Simulated Marine Oligotrophic Conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 1035– 1040.

GORBACH S. L. 2001. Antimicrobial Use in Animal Feed. Time to Stop. *N. Engl. J. Med.* 345: 1202-3.

GOWLAND, P. C., and J. H. Slater. 1984. Transfer and Stability of drug Resistance Plasmids in *Escherichia coli* strain K12. *Microb. Ecol.* 10:1-13.

GRUZZA M., M. Fons, M. Ouriet, Y. Duval-Iflash and R. Ducluzeau. 1994. Study of Gene Transfer *In vitro* and in the Digestive Tract of Gnotobiotic Mice from *Lactococcus lactis* Strains to Various Strains Belonging to Human Intestinal Flora. *Microbiol. Releases.* 2:183 – 189.

Halvorson, H. O., D. Pramer, and M. Rogul (ed.). 1985. Engineered organisms in the environment: scientific issues. American Society for Microbiology, Washington, D.

HAYASHI F., K. Harada , S. Mitsuhashi , and M. Inoue . 1982. Conjugation of drug-resistance Plasmids from *Vibrio anguillarum* to *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiol. Immunol.* 26(6):479-85.

JANDA J. M., S. L. Abbott. 1998. Evolving Concepts Regarding the Genus *Aeromonas*: an Expanding Panorama of Species, Disease Presentations, and Unanswered Questions. *Clin. Infect. Dis.* 27:332-344.

JARRETT P. and M. Stephenson. 1990. Plasmid Transfer between Strains of *Bacillus thuringiensis* Infecting *Galleria mellonella* and *Spodoptera littoralis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:1608 – 1614.

Jones, G. W., L. Baines, and F. J. Genthner. 1991. Heterotrophic bacteria of the freshwater neuston and their ability to act as plasmid recipients under nutrient deprived conditions. *Microb. Ecol.* 22:15-25.

KELLY K. A., J. M. Koehler, L. R. Ashdown. 1992. Spectrum of Extraintestinal Disease Due to *Aeromonas* Species in Tropical Queensland, Australia. *Clin. Infect. Dis.* 16:574-579.

KIRKPATRICK D. 2002. Uses of antimicrobials in food Animals in Canada: Impact on resistance and Human Health. *Veterinary Drug Directorate Health Canada.* Pp 58-60.

KRUSE H. and H. Sorum . 1994. Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments *Appl Environ Microbiol.* 60(11):4015-21.

LACY G. H., V. K. Stromberg AND N. P. Cannon. 1984. *Erwinia amylovora* Mutants and *in planta* derived Transconjugants Resistant to Oxytetracycline. *Can. J. Microbiol.* 6:33 – 39.

LERKE P., Adams R., Farber L. 1965. Bacteriology of Spoilage of Fish Muscle Characterization of Spoilers. *Appl Microbiol.* 13:625-30.

- LEVY S. B., M.A. Cambridge. 2001. *The Antibiotic Paradox*. Perseus Publishing.
- LICHT T. R., B. B. Christensen, K. A. Kogfelt and S. Molin. 1999. Plasmid Transfer in the Animal Intestine and other Dinamic Bacterial Population: The Role of Community Structure and Enviroment. *Microbiol.* 145: 2615 – 2622.
- MACH P. A. and D. J. Grimes. 1982. R–Plasmid Transfer in a Wastewater Treatment Plant. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 1395 – 1403.
- MANDINGAN T. M., M. J. Martinko, J. Parker. *Biología de los Microorganismos*. Madrid: Prentice Hall 2000.
- MOSDELL D. M., D. M. Morris, A. Voltura, D. E. Pitcher, M. W. TWIEST, R. L. MILNE. 1991. Antibiotic Treatment for Surgical Peritonitis. *Ann Surg.* 214: 543-9.
- NAJKIMA T., M. Suzuki, K. Harada. 1983. *Microbiol. Inmun.* 27: 195-1988.
- NEGRETE R. P., J. J. Romero, F. J. L. Arredondo. 2004. Antibiotic Resistance an Presence of Plasmids in *Aeromonas hydrophila* , *Vibrio fluvialis* and *Vibrio furnissi* isolated from *Carassius auratus*. *Vet. Méx.* 35 (1).
- NETHERWOOD T., R. Bowden, P. Harrison, A.G. O'donell, D.S. Parker AND H.J. Gilbert. 1999. Gene Transfer in the Gastrointestinal Tract. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:5139 – 5141.
- Niemi, M., M. Sibakov, and S. Niemela. 1983. Antibiotic resistance among different species of fecal coliforms isolated from water samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:79-85.
- Nijsten R, London N, van den Bogaard A, Stobberingh E. 1995 In-vivo transfer of resistance plasmids in rat, human or pig-derived intestinal flora using a rat model. *J Antimicrob Chemother.* 36(6):975-85
- NILSSON W. B., M. S. Strom. 2002. Detection and Identification of Bacterial Pathogens of Fish in Kidney Tissue Using Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) Analysis of 16S RNA genes. *Dis. Aquat. Organ.* Apr 5;48(3):175-85.
- O'MORCHOE S., O. Ogunseitan, G.S. Sayler AND R. V. Miller. 1988. Conjugal Transfer of R68.45 and FP5 between *Pseudomonas aeruginosa* Strains in a Freshwater Enviroment. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:1923 – 1929.
- PETROCHEILOU V., J. Grinsted AND M. H. Richmond. 1976. R–Plasmid Transfer *In vivo* in the Absence of Antibiotic Selection Pressure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 10:753 – 761.
- PRODINGER W. M., M. Fille, A. Bauernfeind, I. Stemplinger, S. Amann, B. Pfausler, C. Lass-Florl, M. P. DIERICH. 1996. Molecular Epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* Producing SHV-5 Beta- lactamase: Parallel Outbreaks Due to Multiple Plasmid Transfer. *J. Clin. Microbiol.* 34(3):564-568.
- RHODES G., G. Huys, J. Swings, M. C. Gann, M. Hiney, P. Smith. 2000. Distribution of Oxytetracycline Resistance Plasmids Between *Aeromonads* in Hospital and Aquaculture Environments: Implication of Tn1721 in dissemination of the Tetracycline Resistance Determinant Tet A. *Appl Environ Microbiol.* 66: 3883-90.

ROBERTS M. AND S. Falkow. 1979. *In vivo* Conjugal Transfer of R Plasmids in *Neisseria gonorrhoeae*. *Infection and Immunity*. 24:982 – 984.

SANDAA R. A., V. L. Torsvik., J. Grokoyr. 1992. *J. Can. Microbiol.* 38: 1061-1065.

Sandt, C. H., and D. S. Herson. 1991. Mobilization of the genetically engineered plasmid pHSV106 from *Escherichia coli* HB101(pHSV106) to *Enterobacter cloacae* in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:194-200.

SCOTT K. and H. Flint. 1995. Transfer of Plasmid between Strains of *Escherichia coli* under Rumen Conditions. *J. Appl. Bacteriol.* 78: 189 – 193.

SHNAYERSON M. and M.J. Plotkin. 2002. The killers within. The deadly rise of drug-resistant bacteria. Back Bay Books.

Sinyakov M. S., M. Dror, H. M. Zhevelev, S. Margel, R. R. Avtalion. 2002. Natural Antibodies and their Significance in Active Immunization and Protection Against a Defined Pathogen in Fish. *Vaccine*. 20(31-32):3668-74.

SON R., G. RusuL, A. M. Sahilah, A. Zainuri, A. R. Raha, I. Salmah. 1997. Antibiotic Resistance and Plasmid Profile of *Aeromonas hydrophila* Isolates from Cultures Fish. *Telapis* (*Telapia mossambica*). *Lett Appl Microbiol.* 24:479-482.

SORUM H, T.M. L'abee-Lund. 2002. Antibiotic resistance in food related bacteria, a result of interfering with the global web of bacterial genetics. *Int J Food Microbiol*; 78: 43-56.

Sorum, H., T.M. Lábèe-Lund, Solberg, A. Solberg, A. Wold. 2003. Integron-Containing IncU R Plasmid and pAr-32 from the fish Pathogen *Aeromonas salmonicida*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47: 1285-1290.

Stewart G. J., C. D. Sinigalliano. 1999. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1818-1824.

SULLIVAN J. T., H. N. Patrick , W. L. Lowther D. B. Scott , C. W. Ronson. 1995. Nodulating Strains of *Rhizobium loti* Arise Through Chromosomal Symbiotic Gene Transfer in the Environment. *Proc Natl. Acad. Sci. U S A.* 92(19):8985-8989.

TAURE R., T. Cavanagh AND M. Cohen. 1989. Interspecies Gene Transfer *In vivo* Producing an Outbreak of Multiply Resistant Shigellosis. *J. Infect. Dis.* 160:1067 – 1070.

TEUBER M. 2001. Veterinary use and antibiotic resistance. *Curr Opin Microbiol*; 4: 493-9.

TOP E., M. MergeaY, D. Springael and W. Verstraete. 1990. Gene Escape Model: Transfer of Heavy Metal Resistance Genes from *Escherichia coli* to *Alcaligenes eutrophus* on Agar Plates and in Soil Samples. *Appl Environ. Microbiol.* 56:2471 – 2479.

Trevors, J. T., and K. M. Oddie. 1986. R-plasmid transfer in soil and water. *Can. J. Microbiol.* 32:610-613.

WATANABE K. and M. Sato. 1998. Plasmid-mediated Gene Transfer between Insect-resident Bacteria. *Enterobacter cloacae*, and plant-epiphytic Bacteria, *Erwinia herbicola* in Guts of Silkworm Larvae. *Curr. Microbiol.* 62:2994 – 2998.

WATANEBE T.T., Y. Aoki, Y. Ogata. 1977: *Ann NY Acad Sci.* 182: 383-410.

WEINSTEIN M.R., M. Litt, D.A. Kertesz, P. Wyper, D. Rose, M. Coulter. 1997. Invasive infections due to a fish pathogen, *Streptococcus iniae*. *N Engl J Med.*; 337: 589-94.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1999 Joint FAO/NACA/WHO Study Group on Food Safety Issues Associated With Products from Aquaculture. WHO Technical Report Series, No. 883; Midtvedt T, Lingaas E. Putative public health risk of antibiologic resistance development in aquatic bacteria. In: Michael C., Alderman D.J Editors. Chemotherapy in aquaculture: from theory to reality. Paris: Office International de Epizooties. 302-314.

Zhao J and Aoki T. 1992. Nucleotide sequence analysis of the class G tetracycline resistance determinant from *Vibrio anguillarum*. *Microbiol Immunol.* 36(10):1051-60.