

Antibioterapia óptima en el cultivo de organismos marinos

Salomone Andrea L., García Analía N.

Resumen

El incremento de microorganismos a causa de la presencia de materia orgánica en los sistemas de cultivo, puede contribuir al estrés y afectar a los organismos marinos en cautiverio. La sanidad de dichos tanques se mantiene mediante dispositivos de filtración y desinfección, y si fallan en su funcionamiento, la carga bacteriana aumenta a niveles peligrosos para su sanidad, y es necesario el uso de antibióticos de forma adecuada. Para esto es necesario optimizar el ensayo para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de un determinado antibiótico para implementar una antibioterapia óptima. La CIM fue **0,0089 mg.ml⁻¹** tanto para el antibiótico preparado con 6 hs de antelación y expuesto al UV, como para el control preparado en el momento sin exposición a la radiación. Por lo tanto, la administración puede llevarse idealmente en intervalos de 12 hs, y para un volumen de 17.000 l, se deberían administrar 150 g por dosis. A las 24 hs de la dosis inicial, se debería hacer un seguimiento diario de la evolución de la carga bacteriana, de manera de administrar el antibiótico solo el tiempo necesario. Teniendo en cuenta estos parámetros, se minimiza el remanente de antibiótico activo en el medio que puede generar futuras resistencias, pudiendo ser perjudicial para la sanidad de los peces en cautiverio y el ambiente, en el caso de que haya recambio y descarte del agua de los tanques con antibiótico aun activo y/o microorganismos resistentes a los mismos.





Antibioterapia óptima en el cultivo de organismos marinos

Salomone A L,¹ García A N¹.

¹ Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero

Resumen

El incremento de microorganismos a causa de la presencia de materia orgánica en los sistemas de cultivo, puede contribuir al estrés y afectar a los organismos marinos en cautiverio. La sanidad de dichos tanques se mantiene mediante dispositivos de filtración y desinfección, y si fallan en su funcionamiento, la carga bacteriana aumenta a niveles peligrosos para su sanidad, y es necesario el uso de antibióticos de forma adecuada. Para esto es necesario optimizar el ensayo para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de un determinado antibiótico para implementar una antibioterapia óptima. La CIM fue **0,0089 mg.ml⁻¹** tanto para el antibiótico preparado con 6 hs de antelación y expuesto al UV, como para el control preparado en el momento sin exposición a la radiación. Por lo tanto, la administración puede llevarse idealmente en intervalos de 12 hs, y para un volumen de 17.000 l, se deberían administrar 150 g por dosis. A las 24 hs de la dosis inicial, se debería hacer un seguimiento diario de la evolución de la carga bacteriana, de manera de administrar el antibiótico solo el tiempo necesario. Teniendo en cuenta estos parámetros, se minimiza el remanente de antibiótico activo en el medio que puede generar futuras resistencias, pudiendo ser perjudicial para la sanidad de los peces en cautiverio y el ambiente, en el caso de que haya recambio y descarte del agua de los tanques con antibiótico aun activo y/o microorganismos resistentes a los mismos.

Palabras Clave

Antibioterapia óptima, Acuicultura

Introducción

En los sistemas de producción acuícola con recirculación, las bacterias heterótrofas tienen funciones relevantes en el reciclaje del carbono y el nitrógeno presentes en la materia orgánica, en la biodisponibilidad de nutrientes, el mejoramiento de la calidad del agua, el control de enfermedades y la nutrición de los organismos cultivados (Miranda-Baeza *et al.* 2015; Beardsley *et al.* 2011).

El incremento descontrolado de microorganismos, incentivado por la presencia de materia orgánica en los sistemas de cultivo, puede contribuir al estrés y afectar a los organismos cultivados (Nhin *et al.* 2021; Drennan *et al.* 2006). Para mantener la sanidad en los tanques se utilizan sistemas de filtración y desinfección. El uso de filtros UV (Ultra Violeta) en tanques de cultivo de peces marinos es extremadamente benéfico para la destrucción de microorganismos patógenos causantes de enfermedades. Sin embargo, cuando la carga bacteriana aumenta abruptamente (fuente de luz UV se agota, introducción al tanque de peces enfermos, exceso de materia orgánica disuelta por deficiencia en el sistema de filtrado), se deben utilizar antibióticos para el control de dichos patógenos (Beardsley *et al.* 2011; Mc Kinno *et al.* 2008; Drennan *et al.* 2006). A causa de esto, el Gabinete BIOEX del INIDEP requiere esporádicamente el uso de antibiótico (Amoxicilina, amplio espectro, perteneciente al grupo β Lactámicos) con lo cual es importante, al dosificar el mismo, tener en cuenta la carga bacteriana, de modo de no suministrarlo en exceso o en defecto, determinado lo que se denomina “antibioterapia óptima” (Cannut Blasco *et al.* 2015; Mc Kinno *et al.* 2008).

Para esto es necesario optimizar el ensayo de determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) de antibiótico de acuerdo a la densidad bacteriana presente en el agua de los tanques de cría de organismos marinos. Se consideran aceptables valores de 1×10^5 UFC.ml⁻¹ (UFC: Unidades Formadoras de Colonias) de bacterias heterótrofas totales y menor o igual a 1×10^2 UFC.ml⁻¹ de bacterias *vibrionáceas*, las cuales son consideradas potenciales patógenos en acuicultura marina (García 2018). Por otro lado, al poseer un sistema de desinfección UV, es pertinente no sólo evaluar

Antibioterapia óptima en el de cultivo de organismos marinos



si la estructura del antibiótico es afectada por la exposición a dicha radiación, sino también su funcionalidad dentro del intervalo de tiempo en la re-dosificación del mismo, que en la práctica puede ser cada 8 a 12 hs. A partir de estos datos, frente a un aumento anormal de carga bacteriana mayor a 1×10^2 UFC.ml⁻¹ de bacterias *vibrionáceas*, se podrá determinar la dosis de antibiótico necesario, teniendo en cuenta el volumen total de agua del tanque de cultivo, de modo que sea efectiva sin ser nociva para los organismos marinos en cautiverio.

Materiales y métodos

Para evaluar la dosis de Amoxicilina 500 (Amoxicilina 500 mg, Laboratorios *Roemmers*) a utilizar dependiendo de la carga bacteriana en los tanques de cultivo, se optimizó el ensayo para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM). La CIM se define como la menor dilución de una determinada sustancia en la cual no se observa crecimiento de microorganismos, aplicando el método estándar recomendado por la CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) basado en Geis *et al.* (1983).

El ensayo se efectuó en microplacas de cultivo de 96 pocillos con fondo en U con medio de cultivo Luria Bertani (LB) (extracto de levadura 0,5 %; peptona 1 %; cloruro de sodio 1 %; pH 7). Se colocaron en el primer pocillo 100 ul de medio LB y 60 ul de antibiótico previamente pulverizado y disuelto en volumen necesario para obtener 8 mg.ml⁻¹ de sustancia activa, obteniéndose una concentración inicial de 3 mg.ml⁻¹ en el primer pocillo, a partir del cual se realizaron diluciones seriadas 1:2. Para determinar la estabilidad, que es medida directa de su tiempo de eficacia, el antibiótico fue preparado 6 hs antes disolviéndolo en medio LB, conservado a temperatura ambiente y luego expuesto durante 5 min a radiación UV. Como control positivo del ensayo se utilizó antibiótico preparado en el momento sin exposición al UV. En cada pocillo se inocularon 50 ul de agua del tanque de cultivo conteniendo 1×10^3 UFC.ml⁻¹ de bacterias heterótrofas totales, que fueron determinadas por recuento en Agar Zöobell (peptona de carne 0,5 g; agar 0,3 g; agua de mar filtrada 75 ml; agua destilada 25 ml; pH 7,5). La placa fue incubada a 25 ± 1 °C durante 24 hs. Los ensayos se realizaron por duplicado y se determinó la CIM por observación a simple vista del crecimiento o no, de microorganismos. Se incluyeron controles de contaminación (medio LB y antibiótico en medio LB).

Resultados y Discusión

Se define antibioterapia óptima a la selección del antimicrobiano y el régimen de dosificación adecuados que consiguen los mejores resultados biológicos con los mínimos efectos adversos para un sistema y generando el mínimo impacto en el desarrollo de resistencias bacterianas. Para los antibióticos β Lactámicos como la Amoxicilina, el tiempo durante el cual las concentraciones del antibiótico permanecen sobre el valor de la CIM, es el parámetro relacionado con la erradicación bacteriana y la respuesta microbiológica. Este parámetro se denomina tiempo de eficacia, la cual se debe mantener durante al menos la mitad del tiempo que transcurre entre dosis.

La administración de Amoxicilina se realiza de forma rutinaria cada 8 hs de acuerdo a la posología del prospecto adjunto en caso de infección sistémica de un organismo humano, por lo tanto, el tiempo de eficacia debe ser, al menos, 4 hs. En el caso de peces no está regulado en Argentina, ya que se enfoca en los límites aceptables de antibiótico remanente en músculo de animales para consumo que ya poseen bacteriuria sistémica y manifiestan enfermedad, como está detallado en la Resolución Conjunta 834/2015 y 391/2015 del Ministerio de Salud y del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. En este caso se determinó a las 6 hs para dar un margen de administración de hasta 12 hs entre dosis, teniendo en cuenta que se utilizará antes para el tratamiento



del agua para prevenir la infección sistémica de los animales en cultivo. Cuanto menor es la semivida del antibiótico, mayor es la frecuencia con la que se debe administrar.

La CIM fue **0,0089 mg.ml⁻¹** tanto para el antibiótico preparado con 6 hs de antelación y expuesto al UV, como para el control preparado en el momento sin exposición a la radiación. Por lo tanto, la administración puede llevarse idealmente en intervalos de 12 hs, minimizando así el remanente de antibiótico activo en el medio que puede generar futuras resistencias, pudiendo ser perjudicial para la sanidad de los peces en cautiverio y el medio ambiente, en el caso de que haya recambio y descarte del agua de los tanques con antibiótico aun activo y/o microorganismos resistentes a los mismos.

La cantidad de antibiótico que se debe suministrar al tanque de cultivo, es directamente proporcional al volumen del tanque. Como la cantidad de amoxicilina está calculada por ml de solución, mediante regla de proporciones, se determinó que, para un volumen de 17.000 l, se deberían administrar 150 g por dosis. A las 24 hs de la dosis inicial, se debería hacer un seguimiento diario de la evolución de la carga bacteriana, de manera de administrar el antibiótico solo el tiempo necesario para retornar a niveles aceptables de microorganismos, disminuyendo de esta manera, como se menciona en el párrafo anterior, el impacto sobre los animales en cautiverio y el medio ambiente.

Bibliografía

Beardsley C, Moss F, Malfatti F, Azam F. 2011. Quantitative role of shrimp fecal bacteria in organic matter fluxes in a recirculating shrimp aquaculture system. *FEMS Microbiol Ecol.* 77 (1): 134-145.

Canut Blasco A, Aguilar Alfaro L, Cobo Reinos J, Gimenez Mestre MJ, Rodriguez Gascon A. 2015. Análisis farmacocinético-farmacodinámico en microbiología: herramienta para evaluar el tratamiento antimicrobiano. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 33: 48-57.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Ninth Edition. CLSI document M07-A9.

Drennan DG, Hosler KC, Francis M, Weaver D, Aneshansley G, Beckman G, Jhonson CH, Cristina CM. 2006. Standardized evaluation and rating of biofilters II. Manufacturer's and user's perspective. *Aquacult Eng.* 34 (3): 403-416.

García A. 2018. Análisis Microbiológico del agua de los tanques de Reproductores de Chernia (*Polyprion americanus*) Besugo (*Pagrus pagrus*) y Lenguado (*Paralichthys orbignyanus*) Período 2015 al 2017. Inf. AyT INIDEP N° 138/2018, 19 pp.

Geis J, Singh J, Teuber M. 1983. Potential of lactic streptococci to produce bacteriocin. *Appl Environ Microbiol.* 45(1):205-211.

Mc Kinno P S, Paladino JA, Schntag JJ. 2008. Evaluation of area under the inhibitory curve (AUC) and time above the minimum inhibitory concentration (T.MIC) as predictors of outcome for cefepime and ceftazidime in serious bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents.* 31: 345-351.

Ministerio de Salud y Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Resolución Conjunta 834/2015 y 391/2015. <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/245000-249999/248651/norma.htm>

Miranda Baeza A, Orozco Medina C, Rivas Vegal ME, Luna Gonzalez A. 2015. Evaluación de la carga de bacterias heterótrofas y vibrios en un sistema de cultivo integrado camarón-molusco-macroalga. *Hidrobiol.* 25 (2): 311-314



Nhinh DT, Le DV, Van KV, Huong Giang NT, Dang LT, Hoai TD. 2021. Prevalence, virulence, gene distribution and alarming the multidrug resistance of *Aeromonas hydrophila* associated with disease outbreaks in freshwater aquaculture. *Antibiotics*. 10(5):532. PMID: 34064504.

COPIA ELECTRÓNICA INIDEP