

Resistencia antibiótica en bacterias cultivables aisladas del cangrejo *Ucides occidentalis* en el mayor manglar del Perú

Antibiotic resistance in culturable bacteria isolated from *Ucides occidentalis* crab in the largest mangrove swamp in Peru

Paúl Campaña–Maza^{1,2,3} , Nicole Vergara–Alfaro^{1,2,3} , Eneida Vieyra–Peña^{1,4} , Héctor Sánchez–Suárez⁵ , Marco Zapata–Cruz^{1,3,6} , Carlos Zamora–Gutiérrez^{3,7} , Auberto Hidalgo–Mogollón^{1,3,6} , Pedro Masías^{1,3,6} , Robert Peralta–Otero^{1,3} , Alberto Ordínoza–Zapata^{1,3,4,6,8*} 

¹Universidad Nacional de Tumbes, Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar. Puerto Pizarro, Tumbes, Perú.

²Universidad Nacional de Tumbes, Escuela de Posgrado. Tumbes, Tumbes, Perú.

³Universidad Nacional de Tumbes, Grupo de Investigación en Biodiversidad en Ecosistemas Acuáticos Tropicales (BioTrop). Puerto Pizarro, Tumbes, Perú.

⁴Asociación de Profesionales Investigadores de Tumbes (Aspritum). Tumbes, Tumbes, Perú.

⁵Universidad Nacional de Tumbes, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Corrales, Tumbes, Perú.

⁶Universidad Nacional de Tumbes, Grupo de Investigación en Acuicultura Tropical (AcuiTrop). Puerto Pizarro, Tumbes, Perú.

⁷Universidad Nacional de Tumbes, Departamento Académico de Biología y Bioquímica. Tumbes, Perú.

⁸Universidad Nacional de Tumbes, Laboratorio de Acuicultura II. Tumbes, Perú.

*Autor para correspondencia: aordinolaz@untumbes.edu.pe

RESUMEN

La resistencia antibiótica es un problema mundial que afecta a diversos ecosistemas, incluidos los manglares. El cangrejo de manglar *Ucides occidentalis* es el crustáceo más explotado para consumo humano en manglares de Perú y Ecuador. Por ello, se debe monitorear la presencia de bacterias resistentes a antibióticos, para proteger la salud de los consumidores. La investigación tuvo como objetivo determinar la resistencia antibiótica en cepas bacterianas cultivables aisladas de *U. occidentalis* en el manglar de Tumbes, el mayor del Perú. Se recolectaron 30 cangrejos, que fueron sacrificados y se extrajo muestras de su hepatopáncreas, intestino y hemolinfa, se sembraron en agar tiosulfato citrato bilis sacarosa y agar tripticasa soya. Las colonias se subcultivaron hasta cepas puras, que se identificaron molecularmente y se evaluó su resistencia contra 12 antibióticos. Como resultado se aislaron 35 cepas bacterianas de los géneros: *Vibrio* (17), *Bacillus* (9), *Staphylococcus* (4), *Enterobacter* (2), además de *Exiguobacterium*, *Halomonas* y *Priestia* (una cada uno). El 59,4% de las cepas fueron resistentes hasta 4 antibióticos. Los géneros de mayor a menor resistencia a antibióticos fueron *Enterobacter* (100% de sus cepas), *Vibrio* (70,6%), *Staphylococcus* (50%) y *Bacillus* (33,3%). Las cepas fueron más resistentes a estreptomycin (40,7%) y azitromycin (29,6%), antibióticos empleados en clínica humana. Cuatro cepas de *Vibrio* spp., una de *Staphylococcus epidermidis* y una de *Enterobacter cloacae* resultaron multirresistentes. La mayoría son potencialmente patógenas y resistentes a antibióticos, por lo que constituyen un riesgo para los cangrejos y sus consumidores; por ello, se recomienda cocerlos bien para eliminar las bacterias que albergan.

Palabras clave: Resistencia antimicrobiana; resistencia antibiótica; bacteria multirresistente; microbiota acuática; inocuidad alimentaria

ABSTRACT

Antibiotic resistance is a global problem affecting diverse ecosystems, including mangroves. The mangrove crab *Ucides occidentalis* is the most exploited crustacean for human consumption in the mangroves of Peru and Ecuador. Therefore, the presence of antibiotic-resistant bacteria must be monitored to protect consumer health. The aim of this research was to determine antibiotic resistance in cultivable bacterial strains isolated from *U. occidentalis* in the Tumbes mangrove, the largest mangrove forest in Peru. Thirty crabs were collected, sacrificed, and samples of their hepatopancreas, intestine, and hemolymph were cultured on thiosulfate citrate bile sucrose agar and trypticase soy agar. The colonies were subcultured to obtain pure strains, which were molecularly identified, and their resistance to 12 antibiotics was evaluated. As a result, 35 bacterial strains were isolated from the genera: *Vibrio* (17), *Bacillus* (9), *Staphylococcus* (4), *Enterobacter* (2), as well as *Exiguobacterium*, *Halomonas*, and *Priestia* (one each). 59.4% of the strains were resistant to up to 4 antibiotics. The genera, listed from highest to lowest resistance to antibiotics, were *Enterobacter* (100% of its strains), *Vibrio* (70.6%), *Staphylococcus* (50%), and *Bacillus* (33.3%). The strains were most resistant to streptomycin (40.7%) and azithromycin (29.6%), antibiotics used exclusively in human clinical practice. Four strains of *Vibrio* spp., one of *Staphylococcus epidermidis*, and one of *Enterobacter cloacae* turned out multidrug-resistant. Most strains are potentially pathogenic and resistant to antibiotics, posing a risk to both crabs and consumers. Therefore, it is recommended to cook them thoroughly to eliminate the bacteria they harbor.

Key words: Antimicrobial resistance; resistance to antibiotics; multidrug-resistant bacteria; aquatic microbiota; food safety

INTRODUCCIÓN

El uso de antibióticos constituye un asunto de preocupación; ya que pueden eliminar ciertas cepas bacterianas y desequilibrar la microbiota de ambientes naturales, o propiciar resistencia antibiótica en bacterias, sean estas patógenas o no, de humanos y animales [1]. Los antibióticos se utilizan ampliamente para tratar enfermedades humanas y animales, y en veterinaria como promotor de crecimiento y medida profiláctica contra enfermedades infecciosas [2]. El consumo global de antibióticos sigue en aumento, y se pronostica que para 2030 será un 67% mayor que el del año 2015 [3].

Asimismo, los antibióticos se hallan también en el medio acuático, tanto en ríos, mares y manglares [4, 5]. El manglar de Tumbes es el mayor manglar del Perú, alberga recursos hidrobiológicos que se explotan para la alimentación; entre ellos el cangrejo de manglar (*Ucides occidentalis*) que es el crustáceo más explotado en la zona [6], el cual está expuesto a contaminantes producidos por actividades antrópicas [7], incluidos los residuos antibióticos [8].

Estos residuos antibióticos pueden propiciar el desarrollo de bacterias resistentes, las cuales podrían acumularse en los organismos que viven en el manglar. Sin embargo, luego de realizar la revisión de literatura científica, no se ha podido localizar ningún estudio publicado sobre la resistencia de especies bacterianas aisladas de *U. occidentalis*; por lo que la presente investigación pudiera ser la primera en esta materia. Debido al riesgo a la salud pública que implica la posible existencia de bacterias resistentes a antibióticos en *U. occidentalis*, en esta investigación se evaluó la resistencia antibiótica en bacterias cultivables aisladas de ese cangrejo en el manglar de Tumbes, el mayor del Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra consistió en 30 ejemplares de *U. occidentalis* recolectados en tres muestreos realizados en los meses de octubre, noviembre y diciembre de 2022 en tres zonas del manglar: Puerto Pizarro, El Bendito y la desembocadura del río Tumbes. Estos fueron medidos con un vernier electrónico (Dongguan Lefeiwu Electronic Technology, SL 150, China) con precisión de 0,1 mm y pesados en una balanza electrónica (Ohaus, AX8201, USA), con precisión de 0,1 g. Los ejemplares tuvieron peso y ancho cefalotorácico (AC) promedio de $80,8 \pm 4,9$ g y $192,6 \pm 32,0$ mm, respectivamente, todos con talla comercial ($AC \geq 65$ mm). Los ejemplares fueron anestesiados mediante la reducción de su temperatura corporal según el método de la Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals (RSPCA) [9], entidad que vela por el bienestar animal. De cada cangrejo se extrajo 1 mL de hemolinfa de la articulación del carpo y propodio de su quela. Luego se sacrificó al ejemplar evitando su sufrimiento como indica RSPCA [9]. Se extrajo 0,1 g de hepatopáncreas e intestino, que fueron triturados en un tubo de microcentrifuga con 900 μ L de solución salina (2,5% de NaCl).

A partir de los homogenados se prepararon diluciones 10^0 a 10^{-3} en 2,5% NaCl. Se sembraron 100 μ L de cada una en un medio selectivo para *Vibrio* spp.: agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS, marca Oxoid) y en el medio no selectivo: agar tripticasa soya (TSA, marca Oxoid).

La hemolinfa sin diluir se sembró en los mismos medios y luego todos se incubaron a 37°C por 24 horas (Memmert, IN75, Alemania).

Después de observar el crecimiento, las colonias más representativas se sub cultivaron en TSA (marca Oxoid) para obtener cepas puras. Luego se les realizó tinción de Gram y las pruebas de catalasa y oxidasa. Las cepas se conservaron en caldo tripticasa soya (TSB, marca Oxoid) con glicerol al 15% a -15°C.

Las cepas aisladas se nombraron siguiendo la estructura: (Código de zona)(Número secuencial de cepa)(espacio)(Código de tejido). Donde el código de zona fue “P” para Puerto Pizarro, “B” para El Bendito y “D” para la desembocadura del río Tumbes; el número secuencial de cepa fue un número de dos dígitos, que representó el orden en que fue aislada la cepa y el código de tejido fue “hem” si la cepa se aisló de la hemolinfa, “hep” si se aisló del hepatopáncreas e “int” si se aisló del intestino.

Las cepas bacterianas aisladas fueron identificadas a nivel molecular mediante el secuenciamiento de un fragmento de su gen 16S ARNr, usando los *primers* universales 27F y 1492R. La reacción en cadena de polimerasa se realizó utilizando un termociclador (Applied Biosystems, SimpliAmp Thermal Cycler, Singapur), siguiendo las condiciones de amplificación específicas para el gen de interés [10]. El secuenciamiento se llevó a cabo mediante la técnica de Sanger [11], en un secuenciador capilar (Applied Biosystems/Hitachi, 3500 Genetic Analyzer, Japón); las secuencias obtenidas se recortaron y alinearon para generar secuencias consenso, que se consultaron en las bases de datos de GenBank [12] y SILVA [13] para determinar la especie bacteriana.

Se determinó la resistencia antibiótica de las cepas, con la técnica de difusión en disco [14] con 12 antibióticos comerciales de siete familias: Aminoglucósidos (Gentamicina 10 μ g y Estreptomina 10 μ g), Fenícoles (Cloranfenicol 30 μ g y Florfenicol 30 μ g), Fosfonatos (Fosfomicina 50 μ g), Penicilinas (Ampicilina 10 μ g), Quinolonas (Ácido Nalidíxico 30 μ g, Enrofloxacin 5 μ g y Norfloxacin 10 μ g), Macrólidos (Azitromicina 15 μ g) y Tetraciclinas (Tetraciclina 30 μ g y Oxitetraciclina 30 μ g). La sensibilidad antibiótica se estableció en base a los puntos de corte indicados para cada género: *Vibrio* [15, 16, 17], *Staphylococcus* y *Enterobacter* [18, 19, 20, 21, 22] y *Bacillus* [19, 20, 23]. Para algunos antibióticos no existieron puntos de corte para ciertos géneros bacterianos, por ejemplo, fosfomicina, ácido nalidíxico y norfloxacin para *Bacillus* y *Staphylococcus*, y florfenicol para *Enterobacter*. Tampoco hubo puntos de corte para *Exiguobacterium*, *Halomonas* y *Priestia*, posiblemente porque no son géneros de interés en clínica humana o animal.

Se calculó el número de antibióticos y de familias antibióticas a los que fue resistente cada cepa y el índice de resistencia múltiple a antibióticos (MAR), definido como la fracción de antibióticos a los que resiste la cepa dividido entre el número total de antibióticos aplicados a la misma. Se estableció la multiresistencia de la cepa cuando fue resistente al menos a un antibiótico en tres o más de sus familias [15].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de cepas bacterianas cultivables aisladas de *Ucides occidentalis*

Se aislaron 146 cepas bacterianas a partir de *U. occidentalis* (53 en TCBS y 93 en TSA). Por limitaciones económicas no se pudieron evaluar todas las cepas. Se seleccionaron al azar 35, las cuales, al ser identificadas molecularmente correspondieron

en su mayoría al género *Vibrio* (17), seguido de los géneros *Bacillus* (9), *Staphylococcus* (4), *Enterobacter* (2) y por último de *Exiguobacterium*, *Halomonas* y *Priestia* (una cepa cada uno). En cuanto a las especies de las cepas, la mayoría correspondieron a *Vibrio alginolyticus* (9), seguido de *V. parahaemolyticus* (4) y *Bacillus cereus* (3) (TABLA I).

TABLA I
Identificación de cepas bacterianas cultivables de *Ucides occidentalis* en el manglar de Tumbes

Zona de muestreo	Cepa	Especie	Identidad (%)		
			GenBank	SILVA	
Puerto Pizarro	P03 hem	<i>Bacillus vaezensis</i>	98,55	98,42	
	P14 hep	<i>Vibrio natriegens</i>	100,00	100,00	
	P20 hep	<i>Bacillus cereus</i>	100,00	100,00	
	P23 hep	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	100,00	100,00	
	P40 int	<i>Enterobacter cloacae</i>	100,00	100,00	
	P45 int	<i>Vibrio alginolyticus</i>	100,00	99,93	
	P46 hem	<i>Bacillus</i> spp.	99,70	99,70	
	P48 hem	<i>Bacillus cereus</i>	100,00	100,00	
	P49 int	<i>Enterobacter cloacae</i>	99,32	99,40	
	P50 int	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	100,00	100,00	
	P52 int	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100,00	100,00	
	P53 int	<i>Vibrio alginolyticus</i>	100,00	100,00	
	P54 int	<i>Bacillus cereus</i>	100,00	100,00	
	P55 hep	<i>Bacillus</i> sp.	100,00	100,00	
	P56 hep	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100,00	99,93	
	El Bendito	B04 int	<i>Vibrio fortis</i>	99,90	99,89
		B05 hem	<i>Vibrio alginolyticus</i>	99,37	99,15
B08 hem		<i>Vibrio fortis</i>	99,93	100,00	
B09 hem		<i>Vibrio rotiferianus</i>	98,97	98,96	
B12 hep		<i>Staphylococcus hominis</i>	99,34	99,17	
B14 hep		<i>Vibrio alginolyticus</i>	100,00	99,72	
B15 int		<i>Vibrio alginolyticus</i>	99,72	100,00	
Desembocadura del río Tumbes	B16 int	<i>Vibrio alginolyticus</i>	99,81	99,61	
	B16 hem	<i>Halomonas</i> sp.	99,93	99,92	
	D20 hep	<i>Bacillus siamensis</i>	100,00	100,00	
	D21 hep	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	100,00	100,00	
	D24 hem	<i>Vibrio alginolyticus</i>	99,82	99,76	
	D28 hem	<i>Exiguobacterium profundum</i>	100,00	100,00	
	D30 int	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,50	99,80	
	D32 int	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	100,00	100,00	
	D34 int	<i>Vibrio alginolyticus</i>	100,00	100,00	
	D37 int	<i>Bacillus altitudinis</i>	100,00	100,00	
	D41 hep	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	100,00	100,00	
	D48 hem	<i>Vibrio alginolyticus</i>	100,00	100,00	
	D49 hem	<i>Priestia (Bacillus) endophytica</i>	99,93	99,58	

48,6% de las cepas bacterianas identificadas molecularmente en *Ucides occidentalis* fueron del género *Vibrio*, era de esperar, pues este género es habitual en ambientes acuáticos marinos y mixohalinos; y ha sido reportado como abundante en investigaciones realizadas en *Ucides cordatus* en Brasil [24, 25].

En esta investigación también se encontraron cepas de *Bacillus* spp. y en menor grado de *Staphylococcus* spp., *Enterobacter cloacae*, *Halomonas* sp., *Exiguobacterium profundum* y *Priestia endophytica*. Los tres primeros géneros han sido reportados en *U. cordatus* del Brasil, por ejemplo: *Bacillus cereus* [26], *Staphylococcus aureus* [27] y *Enterobacter* spp. [28]. Aunque bacterias de los géneros *Halomonas*, *Exiguobacterium* y *Priestia* no han sido reportadas previamente en cangrejos del género *Ucides*, es comprensible que se hayan encontrado en ellos, ya que son bacterias halófilas previamente reportadas en manglares [29, 30].

Sensibilidad antibiótica de cepas de *Vibrio* spp

En la TABLA II se observa que todas las cepas de *Vibrio* spp. fueron sensibles al cloranfenicol y que la mayoría fueron sensibles al florfenicol, tetraciclina y norfloxacin (94,1%). Más de la mitad de las cepas fueron resistentes a la estreptomycin (58,8%), y en menor grado a la fosfomicina (23,5%), así como a la ampicilina, ácido nalidíxico y azitromicina (17,6%). Cada cepa fue resistente hasta 4 antibióticos (índice MAR entre 0 y 0,33). 58,8% de las cepas (10/17) fueron resistentes hasta 3 antibióticos. Cuatro de las cepas aisladas fueron multirresistentes, siendo las cepas: P14 hep (*V. natriegens*), P23 hep (*V. parahaemolyticus*), P53 int (*V. alginolyticus*) y D34 int (*V. alginolyticus*). De éstas, tres pueden representar un riesgo para el consumidor, ya que se ha reportado que ciertas cepas de *V. alginolyticus* producen infecciones en heridas, peritonitis y otitis [31]; así mismo, algunas cepas de *V. parahaemolyticus* son patógenas y pueden causar severas gastroenteritis asociadas a la transmisión por alimentos [32]. Si estas cepas fueran patógenas para el ser humano, podría presentarse un problema para su tratamiento dado su multirresistencia. Aunque estas cepas pueden ser inactivadas al cocer los alimentos (como ocurre cuando se consumen cangrejos de manglar), aún existiría cierto riesgo de contaminación cruzada con otros alimentos cuando se encuentren crudos [32].

Aguirre *et al.* [15] han reportado alta resistencia a la ampicilina y fosfomicina en *Vibrio* spp. en camarones del manglar tumbesino y de Santa Rosa (Ecuador), así como, resistencia para gentamicina (antibiótico de la familia aminoglucósido, al igual que la estreptomycin), esos resultados se corresponden a la resistencia observada en *Vibrio* spp. en esta investigación. Asimismo, Tinoco *et al.* [33] reportaron resistencia a ampicilina y ácido nalidíxico en *Vibrio* spp. aislados de *L. vannamei* en Tumbes. Se observaron también cuatro cepas multirresistentes de *Vibrio* spp., un hallazgo que es probable, puesto que Aguirre *et al.* [15] han reportado cepas multirresistentes de este mismo género en camarones *L. vannamei*.

Sensibilidad antibiótica de cepas de *Bacillus* spp

Las cepas de *Bacillus* spp. mostraron menor resistencia que las de *Vibrio* spp., pues solo el 33,3% de ellas fueron resistentes (a uno o dos de los antibióticos) (TABLA III). Tres de las nueve cepas (33,3%), fueron resistentes hasta 2 antibióticos, estas fueron: P46 hem (*Bacillus* sp.) y P54 int (*B. cereus*) que fueron

TABLA II
Resistencia antibiótica en *Vibrio* spp. aislados de *Ucides occidentalis* en el manglar de Tumbes

Cepa	FPE	FFO	FFE		FTE		FAM		FQU			FMA	NA	NF	MAR	MR
	Amp	Fos	Clo	Flo	Otc	Tet	Str	Gen	Nal	Nor	Enr	Azm				
P14 hep	S	S	S	S	I	S	R	S	R	S	I	R	3	3	0,25	Si
P23 hep	I	R	S	S	S	S	R	S	I	S	S	R	3	3	0,25	Si
P45 int	I	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	I	3	2	0,25	No
P53 int	R	I	S	S	S	S	R	R	S	S	R	I	4	3	0,33	Si
B04 int	S	S	S	S	S	S	I	S	I	S	S	I	0	0	0,00	No
B05 hem	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	1	1	0,08	No
B08 hem	S	I	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	0	0	0,00	No
B09 hem	S	S	S	S	S	S	I	S	S	I	S	S	0	0	0,00	No
B14 hep	S	S	S	S	S	S	I	S	I	S	S	R	1	1	0,08	No
B15 int	I	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	2	2	0,16	No
B16 int	I	I	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	0	0	0,00	No
D21 hep	I	I	S	R	S	S	R	S	S	S	I	I	2	2	0,16	No
D24 hem	S	S	S	S	I	I	R	S	R	S	I	I	2	2	0,16	No
D30 int	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	2	2	0,16	No
D34 int	R	R	S	S	S	S	R	I	S	S	R	I	4	4	0,33	Si
D41 hep	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	I	I	0	0	0,00	No
D48 hem	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	1	0,08	No
Núm Resistentes	3	4	0	1	0	0	10	2	3	0	2	3				
Núm Sensibles	9	9	17	16	15	16	2	14	10	16	11	7				

Familias antibióticas: FPE: penicilinas, FFO: fosfonatos, FFE: fenicoles, FTE: tetraciclinas, FAM: aminoglucósidos, FQU: quinolonas y FMA: macrólidos. Antibióticos: Amp: ampicilina, Fos: fosfomicina, Clo: cloranfenicol, Flo: florfenicol, Otc: oxitetraciclina, Tet: tetraciclina, Str: estreptomina, Gen: gentamicina, Nal: ácido nalidíxico, Nor: norfloxacin, Enr: enrofloxacin y Azm: azitromicina. NA: número de antibióticos a los que resiste la cepa. NF: número de familias antibióticas a las que resiste la cepa. MAR: Índice de resistencia múltiple a antibióticos. MR: Multiresistente

TABLA III
Resistencia antibiótica en *Bacillus* spp. aislados de *Ucides occidentalis* en el manglar de Tumbes

Cepa	FPE	FFE		FTE		FAM		FQU	FMA	NA	NF	MAR	MR
	Amp	Clo	Flo	Otc	Tet	Str	Gen	Enr	Azm				
P03 hem	I	S	S	S	S	S	S	S	S	0	0	0,0	No
P20 hep	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0	0	0,0	No
P46 hem	S	S	S	S	S	S	S	S	R	1	1	0,1	No
P48 hem	S	S	S	S	S	S	S	S	I	0	0	0,0	No
P54 int	I	S	S	S	S	S	S	S	R	1	1	0,1	No
P55 hep	S	S	S	S	S	S	R	S	R	2	2	0,2	No
D20 hep	S	S	S	S	S	S	S	I	I	0	0	0,0	No
D32 int	S	S	S	S	I	S	S	S	I	0	0	0,0	No
D37 int	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0	0	0,0	No
Núm. Resistentes	0	0	0	0	0	0	1	0	3				
Núm. Sensibles	8	10	10	10	8	10	9	9	3				

Familias antibióticas: FPE: penicilinas, FFE: fenicoles, FTE: tetraciclinas, FAM: aminoglucósidos, FQU: quinolonas y FMA: macrólidos. Antibióticos: Amp: ampicilina, Clo: cloranfenicol, Flo: florfenicol, Otc: oxitetraciclina, Tet: tetraciclina, Str: estreptomina, Gen: gentamicina, Enr: enrofloxacin y Azm: azitromicina. NA: número de antibióticos a los que resiste la cepa. NF: número de familias antibióticas a las que resiste la cepa. MAR: Índice de resistencia múltiple a antibióticos. MR: Multiresistente

resistentes a azitromicina, y la cepa P55 hep (*Bacillus* sp.) que lo fue a azitromicina y a gentamicina. Algunas cepas de *B. cereus* son patógenas, mientras que otras son probióticas, como la aislada por Costa *et al.* [26] a partir de *Ucides cordatus* en Brasil, y las cepas aisladas de camarones *L. vannamei* empleadas como probióticos potenciales, por Potosí [10]. Algunas de las cepas aisladas en esta investigación tienen potencial para ser usadas como probióticos, pues carecen de resistencia a antibióticos, y el género *Bacillus*, en general, se considera seguro para humanos y animales [10].

Sensibilidad antibiótica de cepas de *Staphylococcus* spp

Las cepas de *Staphylococcus* spp. (TABLA IV) fueron sensibles a cloranfenicol, florfenicol y gentamicina (100 %), mostrando mayor resistencia a azitromicina (75%). Dos cepas tuvieron resistencia a antibióticos: P52 int y P56 hep (ambas *S. epidermidis*), la primera resistió a un solo antibiótico (azitromicina), pero la segunda fue multiresistente y resistió a cuatro (ampicilina, oxitetraciclina, enrofloxacin y azitromicina). El 50 % de las cepas fueron resistentes hasta 4 antibióticos.

Las cepas de *Staphylococcus* spp. son frecuentes en aguas marinas, y algunas de ellas representan un riesgo para el ser humano al ser patógenas, riesgo que aumenta cuando dichas cepas

son resistentes a antibióticos. Así, Ullah *et al.* [34] han reportado cepas de *Staphylococcus* spp. en playas del Mar Rojo, entre ellas de *S. epidermidis*. Algunas cepas de *Staphylococcus* spp. mostraron resistencia a azitromicina, tetraciclina y estreptomina. Por otra parte, se han reportado cepas de *S. epidermidis* en merluzas europeas, las cuales fueron resistentes a diversos antibióticos, entre los cuales se hallan penicilina, eritromicina, ácido fusídico, trimetoprim-sulfametoxazol y clindamicina, entre otros. Esto indica que algunas especies de este género son capaces de resistir a diversos antibióticos.

Sensibilidad antibiótica de cepas de *Enterobacter cloacae*

Las dos cepas de *Enterobacter* evaluadas correspondieron a *E. cloacae* y fueron resistentes a antibióticos (TABLA V). La cepa P40 int, solo fue resistente a un antibiótico, mientras que la P49 int lo fue a tres, siendo multiresistente. Todas las cepas fueron resistentes hasta 3 antibióticos.

Las cepas de *E. cloacae*, son patógenas oportunistas en el tracto digestivo de humanos y animales, capaces de producir infecciones hospitalarias, pues varias de sus cepas son resistentes a antibióticos [35]. Estas cepas han sido encontradas en el cangrejo de manglar brasileño *U. cordatus* por Vieira *et al.* [25], aunque estos autores no evaluaron su resistencia antibiótica. Sin embargo,

TABLA IV
Resistencia antibiótica en *Staphylococcus* spp.* aislados de *Ucides occidentalis* en el manglar de Tumbes

Cepa	FPE		FFE		FTE		FAM		FQU		FMA		NA	NF	MAR	MR
	Amp	Clo	Flo	Otc	Tet	Str	Gen	Enr	Azm							
P50 int	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0	0	0,00	No	
P52 int	S	S	S	S	S	I	S	S	S	R	R	1	1	0,11	No	
P56 hep	R	S	S	R	I	S	S	R	R	R	R	4	4	0,44	Si	
B12 hep	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	I	0	0	0,00	No	
Cepas resistentes	1	0	0	1	0	0	0	1	2	2	2					
Cepas sensibles	3	4	4	3	3	3	4	3	1	1	1					

Familias antibióticas: FPE: penicilinas, FFE: fenicoles, FTE: tetraciclinas, FAM: aminoglucósidos, FQU: quinolonas y FMA: macrólidos. Antibióticos: Amp: ampicilina, Clo: cloranfenicol, Flo: florfenicol, Otc: oxitetraciclina, Tet: tetraciclina, Str: estreptomina, Gen: gentamicina, Enr: enrofloxacin y Azm: azitromicina. NA: número de antibióticos a los que resiste la cepa. NF: número de familias antibióticas a las que resiste la cepa. MAR: Índice de resistencia múltiple a antibióticos. MR: Multiresistente. *: No se incluyen datos de sensibilidad a fosfomicina, ácido nalidíxico y norfloxacin pues no existen puntos de corte de dichos antibióticos para *Staphylococcus* spp.

TABLA V
Resistencia antibiótica en *Enterobacter* spp.* aislados de *Ucides occidentalis* en el manglar de Tumbes

Cepa	FPE		FFO		FFE		FTE		FAM		FQU		FMA		NA	NF	MAR	MR
	Amp	Fos	Clo	Otc	Tet	Str	Gen	Nal	Nor	Enr	Azm							
P40 int	S	R	S	S	S	R	S	I	S	S	R	3	3	0,27	Si			
P49 int	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	1	0,09	No			
Cepas resistentes	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	1							
Cepas sensibles	2	0	2	2	2	1	2	1	2	2	1							

Familias antibióticas: FPE: penicilinas, FFO: fosfonatos, FFE: fenicoles, FTE: tetraciclinas, FAM: aminoglucósidos, FQU: quinolonas y FMA: macrólidos. Antibióticos: Amp: ampicilina, Fos: fosfomicina, Clo: cloranfenicol, Otc: oxitetraciclina, Tet: tetraciclina, Str: estreptomina, Gen: gentamicina, Nal: ácido nalidíxico, Nor: norfloxacin, Enr: enrofloxacin y Azm: azitromicina. NA: número de antibióticos a los que resiste la cepa. NF: número de familias antibióticas a las que resiste la cepa. MAR: Índice de resistencia múltiple a antibióticos. MR: Multiresistente. *: No se incluyen datos de sensibilidad a florfenicol, pues no existen puntos de corte de dichos antibióticos para *Enterobacter* spp.

Jalal *et al.* [36] si evaluaron la resistencia antibiótica de cepas de *E. cloacae* en suelo del manglar en Malasia, las cuales fueron completamente resistentes a ampicilina, amoxicilina, penicilina, vancomicina, sulfafurazol, gentamicina, eritromicina, tetraciclina, novobiocina, clindamicina y bacitracina, y en menor medida resistentes a cloranfenicol y estreptomina. Esto respalda que las cepas halladas en la presente investigación hayan tenido resistencia a antibióticos y que una de ellas fuera multiresistente. La presencia de esta bacteria, comúnmente hallada en el intestino de vertebrados, podría estar relacionada con contaminación fecal, que ya se ha evidenciado en algunas zonas del manglar de Tumbes por Morán e Hidalgo [7], quienes reportaron presencia de coliformes totales (entre ellos el género *Enterobacter*) en la zona de Puerto Pizarro, aunque en concentraciones que no excedieron los límites máximos permisibles.

Sensibilidad antibiótica de cepas cultivables

El 100 % de las cepas fueron sensibles al cloranfenicol, y en menor grado a florfenicol, tetraciclina y gentamicina (88,9 % para cada uno), a oxitetraciclina (85,2 %) y a enrofloxacina (70,4 %). El hecho que todas las cepas hayan sido sensibles al cloranfenicol se justifica porque este es de amplio espectro y ataca al ribosoma bacteriano [37]. La ausencia de cepas resistentes al mismo podría deberse a que los residuos de cloranfenicol en el manglar son muy bajos, pues aunque la acuicultura es una de las mayores fuentes de antibióticos en los manglares, el cloranfenicol fue prohibido para la misma desde la década de 1990 y los alimentos con sus residuos no pueden ingresar a los mercados de Estados Unidos y Europa [38].

Si bien se esperaba que las cepas aisladas, mostraran resistencia a oxitetraciclina, florfenicol y enrofloxacina, que son antibióticos que durante muchos años se han empleado en los cultivos de camarones *L. vannamei* aleados al manglar [15, 39], las cepas fueron en su mayoría sensibles a dichos antibióticos, con porcentajes que se encontraron entre 70,4 % y 88,9 %. Esto podría deberse a que en los cultivos de la zona se ha empezado a reducir el uso de antibióticos, lo cual reduciría los residuos del mismo, y en consecuencia, de bacterias resistentes (TABLA VI).

Un caso similar ha sido reportado por De Cock *et al.* [39] en el manglar de El Guayas (Ecuador), quienes al evaluar los niveles de residuos oxitetraciclina y florfenicol en la carne del cangrejo *U. occidentalis*, encontraron que eran muy bajos o indetectables. Esto a pesar de que en la zona existe un gran número de empresas que cultivan camarones y que utilizan esos antibióticos. Los autores argumentan que la baja concentración de estos antibióticos sería porque ellos se acumulan de manera distinta en suelo, agua y fauna, acumulándose menos en la fauna. Por otra parte, las cepas bacterianas aisladas de *U. occidentalis* mostraron resistencia a estreptomina (40,7 %) y azitromicina (29,6 %). Ambos fármacos son utilizados en clínica humana; el primero se emplea principalmente en el tratamiento de tuberculosis, por lo que es posible que residuos de este antibiótico procedan de pacientes con esa enfermedad, ya que Tumbes tiene varios distritos con alta incidencia de tuberculosis [40]. En cuanto a la azitromicina, esta es empleada en infecciones respiratorias, y su presencia en sistemas acuáticos se ha incrementado por su uso intensivo en la pandemia por SARS CoV 2 (COVID-19) [41]. Es posible que residuos de ambos antibióticos hayan ingresado al manglar a través de poblaciones asentadas en su cercanía o incluso desde la ciudad de Tumbes, la que vierte aguas servidas sin tratar al

TABLA VI
Porcentaje de cepas bacterianas resistentes, intermedias y sensibles a los antibióticos aisladas de *Ucides occidentalis* en el manglar de Tumbes

Antibiótico	Porcentaje			
	Resistentes	Intermedias	Sensibles	No determinado*
Ampicilina	18,5	18,5	63,0	0,0
Fosfomicina	22,2	14,8	33,3	29,6
Cloranfenicol	0,0	0,0	100,0	0,0
Florfenicol	3,7	0,0	88,9	7,4
Oxitetraciclina	7,4	7,4	85,2	0,0
Tetraciclina	0,0	11,1	88,9	0,0
Estreptomina	40,7	25,9	33,3	0,0
Gentamicina	7,4	3,7	88,9	0,0
Ácido nalidíxico	11,1	18,5	40,7	29,6
Norfloxacina	0,0	3,7	66,7	29,6
Enrofloxacina	14,8	14,8	70,4	0,0
Azitromicina	29,6	33,3	37,0	0,0

*: La sensibilidad antibiótica no se pudo calcular para algunos antibióticos porque no existieron puntos de corte establecidos para ciertos géneros

río Tumbes, y este transportaría los residuos hasta el manglar [42]. La presencia de bacterias resistentes y multiresistentes a antibióticos en el cangrejo de manglar representa un posible riesgo para la salud del consumidor. Aunque no se ha evaluado la patogenicidad de las cepas bacterianas aisladas, incluso en el caso de que estas fueran inocuas, existe el riesgo que en el tracto digestivo del consumidor, las bacterias puedan transferir horizontalmente su resistencia a otras cepas patógenas para los seres humanos [43]. Según James *et al.* [44], el tratamiento térmico necesario para eliminar bacterias resistentes a antibióticos requiere una temperatura mínima de 70°C por al menos 2 min. Por lo tanto, se recomienda cocinar adecuadamente la carne del cangrejo antes de su consumo para reducir el riesgo de transmisión de resistencia antibiótica.

CONCLUSIONES

Las cepas bacterianas aisladas de *U. occidentalis* correspondieron principalmente a géneros como *Vibrio* spp., *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp. y *E. cloacae*. El 59,4 % de estas cepas mostraron resistencia a hasta cuatro antibióticos, y seis de ellas fueron multiresistentes. La resistencia principal fue a estreptomina (40,7 %) y azitromicina (29,6 %), antibióticos utilizados principalmente para el tratamiento de enfermedades infecciosas en humanos. Esto sugiere que la principal fuente de contaminación por antibióticos podría estar relacionada con las poblaciones humanas asentadas cerca del manglar. Todas las cepas mostraron sensibilidad a cloranfenicol, probablemente debido a que es un antibiótico de uso muy restringido. Asimismo, la mayoría de las cepas (entre 70,4 % y 88,9 %) fueron sensibles a tetraciclina, gentamicina, oxitetraciclina, florfenicol y enrofloxacina, los tres últimos antibióticos están aprobados para su uso en acuicultura. Sin embargo, dada la baja resistencia a estos, es posible que en los cultivos de camarones ubicados cerca del manglar se haya reducido el uso de dichos antibióticos. Las bacterias resistentes y multiresistentes a antibióticos en el cangrejo de manglar representan un posible riesgo para la salud del consumidor. Por ello,

se recomienda cocinar adecuadamente la carne del cangrejo antes de su consumo, para mitigar el riesgo de transmisión de resistencia antibiótica, procurando cocerlos al menos a 70°C por 2 min.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Tumbes por financiar en parte esta investigación con el Proyecto: “Contaminación por tetraciclinas y genes de resistencia en componentes bióticos y abióticos del manglar de Tumbes” (Resolución N° 1171-2021/UNTUMBES-CU).

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Grenni P, Ancona V, Barra A. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. *Microchem. J.* [Internet]. 2018; 136:25–39. doi: <https://doi.org/ggrptn>
- [2] Zhu XD, Wang YJ, Sun RJ, Zhou DM. Photocatalytic degradation of tetracycline in aqueous solution by nanosized TiO₂. *Chemosphere* [Internet]. 2013; 92:925–932. doi: <https://doi.org/f45xx5>
- [3] Blaser MJ, Melby MK, Lock M, Nichter M. Accounting for variation in and overuse of antibiotics among humans. *BioEssays* [Internet]. 2021; 43(2):2000163. doi: <https://doi.org/gqbnk5>
- [4] Bilal M, Mehmood S, Rasheed T, Iqbal HMN. Antibiotics traces in the aquatic environment: Persistence and adverse environmental impact. *Curr. Opin. Environ. Sci. Health.* [Internet]. 2020; 13:68-74. doi: <https://doi.org/gmcmn8>
- [5] Mesa–Ramos L, Palacios OA, Adame–Gallegos JR, Chávez–Flores D, Nevárez–Moorillón, GV. Assessing antibiotic residues in sediments from mangrove ecosystems: A review. *Mar. Pollut. Bull.* [Internet]. 2024; 204:116512. doi: <https://doi.org/n728>
- [6] Ordinola ZA, Vieyra EG, Ramírez BE, Saavedra KY. Diversidad genética y estructura poblacional del cangrejo del manglar (*Ucides occidentalis*) en Tumbes, Perú. *Rev. Vet.* [Internet]. 2020; 31:33–37. doi: <https://doi.org/n73f>
- [7] Morán B, Hidalgo A. Contaminantes en la bahía Puerto Pizarro. Manglar [Internet]. 2016 [consultado 30 Sep. 2024]; 13(2):33–42. Disponible en: <https://goo.su/aynby1>
- [8] Grande FJ. Caracterización molecular de la resistencia antimicrobiana de *Vibrio* spp. aislado de langostinos blancos (*Litopenaeus vannamei*) cultivados en Tumbes [tesis de grado en Internet]. Lima (Perú): Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2020 [consultado 24 Mar. 2024]. 73 p. Disponible en: <https://goo.su/JflXVM>
- [9] Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals. Humane killing and processing of crustaceans for human consumption [Internet]. Camberra (Australia): RSPCA; 2016 [consultado 15 Sep. 2024]. 9 p. Disponible en: <https://goo.su/vEgU>
- [10] Potosí KA. Efecto de *Bacillus* spp. aislados de *Litopenaeus vannamei* en la inhibición *in vitro* e *in vivo* de *Vibrio* spp. [tesis de grado en Internet]. Tumbes (Perú): Universidad Nacional de Tumbes; 2024 [consultado 24 Mar. 2024]. 71 p. Disponible en: <https://goo.su/F7v7KD>
- [11] Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* [Internet]. 1977; 74(12):5463-5467. doi: <https://doi.org/dgsrk5>
- [12] Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch–Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. GenBank. *Nucleic Acids Res.* [Internet]. 2013; 41(D1):D36-D42. doi: <https://doi.org/bsdd>
- [13] Quast C, Priesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* [Internet]. 2013; 41(D1):D590-D596. doi: <https://doi.org/gfb6mr>
- [14] Hudzicki J. Kirby–Bauer disk diffusion susceptibility test protocol [Internet]. Washington D.C. (USA): American Society for Microbiology. 2009; [consultado 27 Nov. 2024]. 23 p. Disponible en: <https://goo.su/yWTwKud>
- [15] Aguirre LE, Sánchez–Suárez HA, Ordinola–Zapata A. Resistencia antibiótica en *Vibrio* spp aislados de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Alternativas de tratamiento con extractos de *Azadirachta indica* y *Origanum vulgare*. *Rev. Invest. Vet. Perú.* [Internet]. 2021; 32(4):e19386. doi: <https://doi.org/n736>
- [16] Baron S, Lesne J, Jouy E, Larvor E, Kempf I, Boncy J, Rebaudet S, Piarroux R. Antimicrobial susceptibility of autochthonous aquatic *Vibrio cholerae* in Haiti. *Front. Microbiol.* [Internet]. 2016; 7:1671. doi: <https://doi.org/ggrpzc>
- [17] Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 26th Informational Supplement. Wayne (Pennsylvania, USA): CLSI; 2016. 256 p. (CLSI Supplement M100–S19).
- [18] Aidaros HA, Khalafallah SS, Diab MS, K. Alm Eldin N, El Bahgy HEK. Influence of hygienic measures on enterobacteriaceae prevalence and antimicrobial resistance in poultry farms. *Adv. Anim. Vet. Sci.* [Internet]. 2022; 10(10):2228-2237 doi: <https://doi.org/n738>
- [19] Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing of bacteria isolated from aquatic animals. 3rd ed. Wayne (Pennsylvania, USA): CLSI; 2020. 72 p. (CLSI Supplement Vet04).
- [20] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 21th Informational Supplement. Wayne (Pennsylvania, USA): CLSI; 2011. (CLSI Supplement M100–S21).
- [21] Mughal SS, Bakhat S, Noor MQ ul H, Sohail R, Taj Y, Sarwar S, Sutti L, Faheem F. Fosfomicin resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from urinary tract infections in a tertiary care hospital. *Pak. J. Med. Dent.* [Internet]. 2023. 12(1):53-57. doi: <https://doi.org/n74c>
- [22] Petrovski K, Grinberg A, Williamson N, Abdalla M, Lopez–Villalobos N, Parkinson T, Tucker I, Rapnicki P. Susceptibility to antimicrobials of mastitis–causing *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* and *Str. dysgalactiae* from New Zealand and the USA as assessed by the disk diffusion test. *Aust. Veterinary J.* [Internet]. 2015; 93:227–233. doi: <https://doi.org/f8tsb4>

- [23] Adamski P, Byczkowska-Rostkowska Z, Gajewska J, Zakrzewski AJ, Kłębukowska L. Prevalence and antibiotic resistance of *Bacillus* sp. isolated from raw milk. *Microorganisms*. [Internet]. 2023; 11(4):1065. doi: <https://doi.org/n74d>
- [24] Carvalho MCN, Jayme MM, Arenazio GS, Araújo FV, Leite SGF, Del Aguila EM. Microbiological quality assessment by PCR and its antibiotic susceptibility in mangrove crabs (*Ucides cordatus*) from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Int. J. Microbiol.* [Internet]. 2016; 2016(1):7825031. doi: <https://doi.org/n74f>
- [25] Vieira RHSF, Lima EA, Sousa DBR, Reis EF, Costa RG, Rodrigues DP. *Vibrio* spp. and *Salmonella* spp., presence and susceptibility in crabs *Ucides cordatus*. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*. [Internet]. 2004; 46(4):179–182. doi: <https://doi.org/bhd7zn>
- [26] Costa Filho J, Jorge S, Schmitt Kremer F, Rodrigues de Oliveira N, Farias Campos V, Da Silva Pinto L, Dellagostin OA, Galdino Feijó R, Rodrigues De Menezes FG, Viana de Sousa O, Maggioni R, Marins LF. Complete genome sequence of native *Bacillus cereus* strains isolated from intestinal tract of the crab *Ucides* sp. Data in Brief [Internet]. 2018; 16:381–385. doi: <https://doi.org/n74g>
- [27] Soares TC, Gorchach-Lira K. Action of nisin and high pH on growth of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. in pure culture and in the meat of land crab (*Ucides cordatus*). *Braz. J. Microbiol.* [Internet]. 2005; 36(2):151–156. doi: <https://doi.org/cdj8jj>
- [28] Soares TC, Gorchach-Lira K. The abundance of some pathogenic bacteria in mangrove habitats of Paraíba do Norte estuary and crabmeat contamination of mangrove crab *Ucides cordatus*. *Braz. Arch. Biol. Technol.* [Internet]. 2010; 53(1):227–234. doi: <https://doi.org/fvfhq3>
- [29] Baskaran V, Mahalakshmi A, Prabavathy VR. Mangroves: A hotspot for novel bacterial and archaeal diversity. *Rhizosphere* [Internet]. 2023; 27:100748. doi: <https://doi.org/n74n>
- [30] Soto-Varela ZE, Orozco-Sánchez CJ, Bolívar-Anillo HJ, Martínez JM, Rodríguez N, Consuegra-Padilla N, Robledo-Meza A, Amils R. Halotolerant endophytic bacteria *Priestia flexa* 7BS3110 with Hg²⁺ tolerance isolated from *Avicennia germinans* in a caribbean mangrove from Colombia. *Microorganisms* [Internet]. 2024; 12(9):1857. doi: <https://doi.org/n74p>
- [31] Gao R, Sun K, Abdalla AE, Tian Z, An H, Zhang Z, Liu Y, Zeng X, He X, Fan X. Isolation, characterization, and preliminary application of three *Vibrio* phages in controlling *Vibrio alginolyticus*. *LWT*. [Internet]. 2024; 191:115638. doi: <https://doi.org/n74q>
- [32] Ahmed HA, El Bayomi RM, Hussein MA, Khedr MHE, Abo EM, El-Ashram AMM. Molecular characterization, antibiotic resistance pattern and biofilm formation of *Vibrio parahaemolyticus* and *V. cholerae* isolated from crustaceans and humans. *Int. J. Food Microbiol.* [Internet]. 2018; 274:31–37. doi: <https://doi.org/gnvc2t>
- [33] Tinoco VY. Potencial probiótico de bacterias ácido lácticas aisladas de *Litopenaeus vannamei* frente a *Vibrio* spp. resistentes y sensibles a antibióticos [tesis de grado en Internet]. Tumbes (Perú): Universidad Nacional de Tumbes; 2020. [consultado 10 Ene. 2024]. 62 p. Disponible en: <https://goo.su/Bn9m>
- [34] Ullah R, Yasir M, Bibi F, Abujamel TS, Hashem AM, Sohrab SS, Al-Ansari A, Al-Sofyani AA, Al-Ghamdi AK, Al-sieni A, Azhar EI. Taxonomic diversity of antimicrobial-resistant bacteria and genes in the Red Sea coast. *Sci. Total Environ.* [Internet]. 2019; 677:474–483. doi: <https://doi.org/gztftr>
- [35] López L, Torres M, Zarza E, Henao-Castro A, Contreras L. Composition of the culturable bacterial community associated with the water column and soft tissues from oysters of the mangrove ecosystem at Honda Swamp, Colombian Caribbean. *Univ. Sci.* [Internet]. 2023; 28(1):43-63. doi: <https://doi.org/n75c>
- [36] Jalal KCA, Nur UT, Mardiana MA, Akbar John B, Kamaruzzaman YB, Shahbudin S, Muhammad O. Antibiotic resistance microbes in tropical mangrove sediments in east coast peninsular, Malaysia. *Afr. J. Microbiol. Res.* [Internet]. 2010 [consultado 1 Oct. 2024]; 4(8):640–645. Disponible en: <https://goo.su/OseHW>
- [37] Nguyen LM, Nguyen NTT, Nguyen TTT, Nguyen TT, Nguyen DTC, Tran TV. Occurrence, toxicity and adsorptive removal of the chloramphenicol antibiotic in water: a review. *Environ. Chem. Lett.* [Internet]. 2022; 20:1929–1963. doi: <https://doi.org/gs3zj9>
- [38] Preena PG, Swaminathan TR, Kumar VJR, Singh ISB. Antimicrobial resistance in aquaculture: a crisis for concern. *Biología* [Internet]. 2020; 75:1497–1517. doi: <https://doi.org/gr29v8>
- [39] De Cock A, Forio MAE, Croubels S, Dominguez-Granda L, Jacxsens L, Lachat C, Roa-López H, Ruales J, Scheyvaerts V, Solis MC, Spanoghe P, Tack FMG, Goethals PLM. Health risk-benefit assessment of the commercial red mangrove crab: Implications for a cultural delicacy. *Sci. Total Environ.* [Internet]. 2023; 862:160737. doi: <https://doi.org/n75r>
- [40] Domínguez E, Gonzales LR. Conocimiento sobre tuberculosis pulmonar y actitud hacia el tratamiento de los pacientes que asisten al Centro de Salud Gerardo Gonzales Villegas – Tumbes, 2016. [tesis de grado en Internet]. Tumbes (Perú): Universidad Nacional de Tumbes, 2017 [consultado 22 Ago. 2024]. 59 p. Disponible en: <https://goo.su/s4G79t8>
- [41] Gwenzi W, Selvasembian R, Offiong N-AO, Mahmoud AED, Sanganyado E, Mal J. COVID-19 drugs in aquatic systems: a review. *Environ. Chem. Lett.* [Internet]. 2022; 20:1275–1294. doi: <https://doi.org/gwf5np>
- [42] Niquén MI, Vasquez AC, Hinojosa YA, Niquen AGG. Impactos ambientales generados por vertimiento de aguas residuales urbanas de la ciudad de Tumbes – Perú. *RECIAMUC.* [Internet]. 2021; 5(3):222–232. doi: <https://doi.org/n76c>
- [43] Pérez Gaudio D, Colello R, Fernández D, Mozo J, Martínez G, Fernández Paggi M, Decundo J, Romanelli A, Dieguez S, Etcheverría A, Padola NL, Soraci AL. Horizontal transference of antimicrobial resistance genes between a non-pathogenic *Escherichia coli* and a pathogenic shiga toxin-producing *E. coli* strain. *EC Vet. Sci.* [Internet]. 2018 [consultado 30 Nov. 2024]; 3(2):293-299. Disponible en: <https://goo.su/tSUT>
- [44] James C, Dixon R, Talbot L, James SJ, Williams N, Onarinde BA. Assessing the impact of heat treatment of food on antimicrobial resistance genes and their potential uptake by other bacteria—A critical review. *Antibiotics* [Internet]. 2021; 10(12):1440. doi: <https://doi.org/n76m>